



حمد و سپاس بیکران ایندو منان که عقل، این ارزنده ترین کوهر خلقت را به انسان بخشید تا قادر باشد با تفکر و اندیشه وجد، رازی از اسرار طبیعت را دریابد. اکنون که به لطف و کمک او موفق به گذراندن این دوره از تحصیلاتم شده ام، به رسم ادب و سنت حسنه سپاس، از زحمات بی دریغ، همسر فداکار و دایمی شیره شکر می کنم و خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نصیم ساخته تا در سایه درخت پر بار وجودشان بیایم و از ریشه آنها شلخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. نه میتوانم موی ایشان را که در راه عزت من سفید شد، سیاه کنم و نه برای دستهای پینه بسته شان که ثمره تلاش برای افتخار من است، مرهمی دارم. امروز هستی ام به امید شایسته و فردا کلید باغ بهشت من رضای شما. ره آوردی گران سنگ تر از این ارزان نداشتیم تا به خاک پایتان نثار کنم، باشد که حاصل تلاشم نسیم کوزه غبار خستگیتان را بزداید. امیدوارم بتوانم اندک پاسخی نه به عنوان جبران که فقط به نادمه در شناسی، بعنوان آگاهی به زحمت و مزارت آن ها، به گوشه ای از گذشته شان بدهم.

مراتب امتنان و قدر دانیم را به استاد راهنمای ارجمندم، سرکار خانم دکتر مرجان نصیری اصل استاد فریخته و شایسته که در کمال سه صدر، با حسن خلق و فروتنی و تلاش بی وقفه در بهر شمر نشستن شایسته پروژه از هیچ گلی در این عرصه بر من دریغ ننمودند کمال شکر را دارم. امیدوارم که با علل به درس های آموخته در این دوره پاسخگوی زحمات ایشان بوده و بتوانم در دستیابی به اهداف ایشان همراهشان باشم و برای ایشان و خانواده محترمشان آرزوی عزت و سربلندی و سلامت را از خداوند منان خواستارم.

استاد فرزانه و بزرگوارم سرکار خانم دکتر مریم جوادی که وجودتان دریایی از علم و محبت است و آموختن علم در محضر شما از افتخارات بزرگ زندگیم می- باشد. و از شما به پاس زحمات و راهنمایی ها و محبت های بی دریغ شما شکر می کنم و می دانم آنچه مرا آموخته اید جبران کردنی نیست.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین
دانشکده بهداشت

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد
رشته بهداشت و ایمنی مواد غذایی

عنوان

مقایسه اثر سینام آلدهید با بنزوات سدیم در جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی و خواص
فیزیکو شیمیایی در سس مایونز

استاد راهنما

دکتر مرجان نصیری اصل

استاد مشاور

دکتر مریم جوادی

نگارش

مجتبی شاه محمدی

اسفند - ۱۳۹۴

چکیده

خلاصه مساله: امروزه مصرف کنندگان مواد غذایی تمایل بیشتری نسبت به مصرف غذاهایی که عاری از مواد شیمیایی هستند و در آنها موادی با منشأ طبیعی برای نیل به اهداف خاصی به کار رفته است از خود نشان می دهند به همین دلیل اخیراً مطالعات زیادی روی جایگزین کردن مواد طبیعی به عنوان نگهدارنده در غذاهای مختلف صورت گرفته است از جمله ترکیبات طبیعی که می توانند به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی به کار روند اسانس های گیاهی هستند.

روش تحقیق: بعد از تهیه سس مایونز از کارخانه سس بیدستان، به دو قسمت مساوی تقسیم شد. به یک قسمت از سس ماده نگهدارنده سدیم بنزوات اضافه می شود. لازم به یادآوری است که در حال حاضر سدیم بنزوات به عنوان ماده نگهدارنده توسط کارخانه های سازنده سس به آن اضافه می شود. از این نمونه به عنوان کنترل استفاده شد و تمام آزمون های میکربی روی این نمونه های سس مایونز نیز به موازات بررسی سینام آلدئید انجام شد. سس بدون ماده نگهدارنده به سه گروه تقسیم شد و به آنها از ماده سینام آلدئید در غلظت های ۰/۱، ۰/۰۲۵ و ۰/۰۱۵ درصد سینام آلدئید همراه با ۲۰۰ PPM بنزوات سدیم اضافه شد و در نمونه شاهد هیچ نوع ماده ای به آن اضافه نشد. سپس میزان رشد و ایجاد کلنی برای ۵ نمونه سس حاوی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و ۵ نمونه سس حاوی باکتری اشرشیاکلی در روز صفر در دو دمای ۲۵ و ۴ درجه انجام شد. و آزمایشات در روزهای ۲، ۷، ۱۰ و ۳۰ روز نیز تکرار شد. همچنین، آزمایشات شیمیایی شامل pH، اسیدیته، رطوبت و میزان نمک بر روی سس مایونز در روز صفر و روزهای ۲، ۳، ۷، ۱۰ و ۳۰ انجام شد. شاخص رنگ سس مایونز، در غلظت هایی مختلف سینام آلدئید با کمک دستگاه اسپکتوفتومتر هاتر کالر فلکس انجام شد. برای آنالیز داده ها از آزمونهای Tukey- Kramer و Tukey HSD استفاده شد.

یافته ها: بنزوات ۷۰۰ PPM در روز ۳۰، موفق به مهار رشد استاف اورئوس در دو دمای اتاق و ۴ درجه سانتی گراد و مهار رشد اشرشیاکلی در دمای ۴ درجه سانتی گراد شده است. سینام آلدئید ۰/۱ درصد در روز ۱۰ در دو دمای اتاق و ۴ درجه سانتی گراد، تلقیح رشد اشرشیاکلی را در محیط کشت کاملاً متوقف کرده است و این در حالی است که رشد استافیلوکوکوس اورئوس در روز ۳۰ مهار شده است. البته نتایج نشان می دهد که سینام آلدئید ۰/۱ درصد رشد اشرشیاکلی را در دو دمای یاد شده از روز هفتم و رشد استاف اورئوس را در روز ۱۰ کاهش داده است. در بررسی میزان اسیدیته گروه های مختلف نتایج بدست آمده نشان داد که از نظر آماری میان گروه بدون نگهدارنده با بنزوات هیچ گونه اختلاف معنی داری بدست نیامد. اما این اختلاف در گروه بدون نگهدارنده با سایر گروه ها معنی دار بود. در بررسی میزان pH گروه های مختلف نتایج بدست آمده نشان داد که از نظر آماری میان گروه بدون نگهدارنده و بنزوات و بنزوات+ سینام آلدئید اختلاف معنی داری مشاهده نشد. اما این اختلاف در گروه بدون نگهدارنده با سایر گروه ها (سینام آلدئید ۰/۱٪ و ۰/۰۲۵٪) معنی دار بود. از نظر میزان روشنی، افزودن سینام آلدئید در غلظت های مختلف هیچگونه اختلاف معنی داری را در مقایسه با سس بدون نگهدارنده، بوجود نیاورد. از نظر پارامتر b، نتایج نشان می دهد که تغییرات در میزان زردی سس مایونز پس از افزودن سینام آلدئید ۰/۱٪، نزدیک به زردی سس بدون نگهدارنده است.

نتیجه گیری:

در مطالعه انجام شده، سینام آلدئید ۰/۱ درصد در روز ۱۰ در دو دمای اتاق و ۴ درجه سانتی گراد، تلقیح رشد اشرشیاکلی را در محیط کشت کاملاً متوقف کرده است و این در حالی است که رشد استافیلوکوکوس اورئوس در روز ۳۰ مهار شده است. در صورتی که بنزوات ۷۰۰ PPM در روز ۳۰، موفق به مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس در دو دمای اتاق و ۴ درجه سانتی گراد و مهار رشد اشرشیاکلی در دمای ۴ درجه سانتی گراد شده است. افزودن بنزوات و سینام آلدئید در غلظت های پایین نتوانسته است که همپوشانی اثرات ضد باکتریایی یکدیگر را داشته باشد.

در مورد سینام آلدئید به نظر می رسد که سینام آلدئید در غلظت ۰/۱ درصد اثرات ضد باکتریایی خیلی خوبی در برابر اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده است. البته با توجه به نتایج اثرات ضد باکتری سینام آلدئید در برابر باکتری های گرم منفی زودتر از گرم مثبت ظاهر شده است.

افزایش در میزان اسیدیته، در گروه های سس محتوی سینام آلدئید مشاهده گردید. pH سس های محتوی سینام آلدئید های در مقایسه با سس بدون نگهدارنده به صورت معنی داری کاهش یافت.

از نظر میزان روشنی در رنگ سس، افزودن سینام آلدئید در غلظت های مختلف هیچگونه اختلاف معنی داری را در مقایسه با سس بدون نگهدارنده، بوجود نیاورده است. تغییرات در میزان رنگ سس مایونز پس از افزودن سینام آلدئید ۰/۱ درصد، نزدیک به زردی سس بدون نگهدارنده است.

نتیجه نهایی این مطالعه آن است که سینام آلدئید در غلظت ۰/۱ درصد توانسته است اثرات ضد باکتری مناسب در سس مایونز ایجاد نماید. از نظر آزمون های شیمیایی این ماده می تواند اسیدیته سس را افزایش دهد و از نظر تغییر رنگ هیچ گونه تغییر رنگ نامطلوب و معنی داری مشاهده نگردید.

کلمات کلیدی: سینام آلدئید، بنزوات سدیم، سس مایونز، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی

فهرست مطالب

صفحه	فهرست
۱	فصل اول.....
۱	مقدمه و بیان مسئله.....
۵	۱-۱- میکروارگانیسم های مورد مطالعه و خصوصیات آنها.....
۵	۱-۱-۱- استافیلوک اورئوس
۷	۱-۱-۲- مسمومیت غذایی با استافیلوکوکوس
۸	۱-۱-۳- اشرشیاکلی.....
۱۰	۱-۱-۴- مسمومیت با اشرشیاکلی
۱۲	۱-۲- نگهدارنده های شیمیایی
۱۲	۱-۲-۱- اسید سوربیک و نمکهای آن
۱۳	۱-۲-۲- اسید پروپیونیک
۱۳	۱-۲-۳- دی اکسید گوگرد و سولفیت ها
۱۴	۱-۲-۴- نیتريت و نیترات ها
۱۴	۱-۲-۵- بنزوات سدیم
۱۵	۱-۲-۵-۱- بنزوات سدیم در مواد غذایی
۱۶	۱-۲-۵-۲- بنزوات سدیم در داروسازی
۱۶	۱-۲-۵-۳- سمیت بنزوات سدیم
۱۷	۱-۳- اهداف و فرضیات.....
۱۷	۱-۳-۱- هدف اصلی تحقیق
۱۷	۱-۳-۲- اهداف فرعی
۱۸	۱-۳-۳- اهداف کاربردی
۱۸	۱-۴- فرضیه ها یا سوال های پژوهش.....
۲۰	فصل دوم.....
۲۰	بررسی متون.....
۲۱	۲-۱- تاریخچه استفاده از اسانس.....
۲۲	۲-۲- کاربرد اسانس و ترکیبات استخراجی از آن
۲۳	۲-۳- حد مجاز قابل قبول اسانس
۲۴	۲-۴- استفاده از اسانس

۲۶	۵-۲- دارچین.....
۲۸	۵-۲-۱- خواص دارچین.....
۲۹	۵-۲-۲- میزان تولید سالانه دارچین.....
۲۹	۲-۶- سینام آلدئید.....
۳۳	۲-۶-۱- مطالعات صورت گرفته در جهان.....

فصل سوم..... ۴۲

۴۰	۳-۱- تهیه سس مایونز.....
۴۱	۳-۱- سس مایونز.....
۴۳	۳-۳- تهیه سوسپانسیون میکروبی.....
۴۳	۳-۴- محیط کشت مورد استفاده.....
۴۴	۳-۴-۱- محیط کشت استافیلوکوکوس اورئوس.....
۴۴	۳-۴-۲- محیط کشت اشرشیاکلی.....
۴۵	۳-۵- آزمایشات شیمیایی انجام شده روی سس مایونز.....
۴۵	۳-۵-۱- آزمایش pH.....
۴۵	۳-۵-۲- تعیین میزان اسیدیته.....
۴۷	۳-۵-۳- تعیین رطوبت سس.....
۴۸	۳-۵-۴- تعیین میزان نمک.....
۴۹	۳-۵-۵- آزمون رنگ.....
۵۰	۳-۵-۶- آزمون ارزیابی حسی.....

فصل چهارم..... ۵۱

یافته ها..... ۵۱

۵۲	۴-۱- نتایج آزمایشات میکروبی.....
۵۶	۴-۲- نتایج آزمایشات شیمیایی.....

فصل پنجم..... ۶۰

بحث و نتیجه گیری..... ۶۰

۶۱	۵-۱- بحث.....
۶۱	۵-۲- نتیجه گیری.....
۶۱	۵-۳- محدودیت ها.....
۶۱	۵-۴- پیشنهادات.....

منابع..... ۶۲

فهرست جداول

صفحه	فهرست
۱۹.....	جدول ۱-۱- جدول متغیرها.....
۳۰.....	جدول ۲-۱- مشخصات سینام آلدئید.....
۳۲.....	جدول ۲-۲- مقایسه مواد موثره موجود در اسانس گونه های مختلف دارچین.....
۳۶.....	جدول ۳-۲- مقایسه حداقل غلظت بازدارندگی بر باکتریهای گرم مثبت و منفی.....
۳۷.....	جدول ۴-۲- مقایسه حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی کارواکول و سینام آلدئید.....
۳۸.....	جدول ۵-۲- بررسی حداقل غلظت بازدارندگی عصاره نعناع هندی و دارچین بر روی گونه های مختلف مخمر کاندیدیا.....
۴۸.....	جدول ۱-۱-۴- نتایج مربوط به سس فاقد نگهدارنده.....
۴۹.....	جدول ۲-۱-۴- نتایج مربوط به سس حاوی بنزوات.....
۵۰.....	جدول ۳-۱-۴- نتایج مربوط به سس ۱٪ درصد سینام آلدئید.....
۵۱.....	جدول ۴-۱-۴- نتایج مربوط به سس ۰.۲۵٪ درصد سینام آلدئید.....
۵۲.....	جدول ۵-۱-۴- نتایج مربوط به سس حاوی بنزوات و سینام آلدئید.....
۵۳.....	جدول ۱-۲-۴- میانگین اسیدیته در نمونه های سس مایونز در طول یک ماه نگهداری.....
۵۳.....	جدول ۲-۲-۴- میانگین نمک در نمونه های سس مایونز در طول یک ماه نگهداری.....
۵۴.....	جدول ۳-۲-۴- میانگین رطوبت در نمونه های سس مایونز در طول یک ماه نگهداری.....
۵۴.....	جدول ۴-۲-۴- میانگین pH در نمونه های سس مایونز در طول یک ماه نگهداری.....
۵۵.....	جدول ۵-۲-۴- اندازه گیری رنگ در نمونه های سس مایونز در طول یک ماه نگهداری.....
۵۶.....	جدول ۶-۲-۴- مقایسه نتایج حاصل از آزمون ارزیابی حسی.....

فهرست اشکال

۲۶.....	شکل مربوط به برگ و پوست خشک شده دارچین.....
۲۷.....	شکل مربوط به پودر دارچین.....

فصل اول

مقدمه و بررسی

اهمیت موضوع

در دسترس بودن و مصرف غذای ایمن که تامین کننده نیازهای بدن باشد برای انسان ضروری است. شیمی غذا و سایر ترکیبات موجود در آن اثر مهمی روی سلامت و تغذیه انسان دارد. ایمنی غذا یک مفهوم جدید در دنیای مدرن نیست و عمیقا ریشه در تاریخ تمدن بشری دارد. در کشورهای پیشرفته این موضوع بعد از جنگ جهانی دوم اوج گرفت، فساد مواد غذایی یکی از مشکلات بشر در طول تاریخ بوده است، بسیاری از این فسادها نتیجه فعالیت میکروارگانیسم ها یا واکنشهای آنزیمی در طول نگهداری مواد غذایی است. استفاده از روشهای نگهداری مواد غذایی از گذشته رواج داشته که هم بصورت طبیعی بوده و هم روشهای شیمیایی (۱۰۰۰ تا ۸۰۰۰ سال قبل)، منشاء میکروارگانیسم های موجود در مواد غذایی فلور طبیعی مواد خام و ارگانیسم هایی است که طی دوره های برداشت یا ذبح، فرایند، نگهداری و توزیع وارد ماده غذایی می شوند (James, 2005 & Türkoğlu, 2007).

امروزه ایمنی ماده غذایی و حفظ کیفیت آن در دوره طی نگهداری امری است که نه تنها توجه متخصصین صنعت غذا و مسئولین سلامت کشورها را به خود جلب کرده، بلکه بی توجهی یا کم توجهی به آن می تواند صدمات جبران ناپذیری به جامعه وارد کند. در حال حاضر بیماری های ناشی از مصرف غذاهای آلوده در همه جای دنیا حتی در کشورهای پیشرفته هم یک مشکل اساسی به شمار می رود (شهینیا و همکاران، ۱۳۹۱).

در یکی دو دهه گذشته وقوع بیماری های با منشاء مواد غذایی نه تنها در کشورهای در حال توسعه بلکه در کشورهای توسعه یافته با استانداردهای بالای بهداشتی نیز رو به افزایش بوده است؛ این در حالی است که در بسیاری از جوامع خصوصا در جوامع در حال پیشرفت اصولا سیستم ثبت این قبیل بیماریها وجود نداشته و حتی در خیلی موارد افرادی که به بیماریهای منتقله از غذا دچار می شوند به مراکز درمانی مراجعه نمی کنند، بخصوص مواردی که دوره کمون و نقاهت بیماری ناشی از مصرف مواد غذایی کم بوده و شخص مبتلا بعد از چند ساعت خود به خود بهبود می یابد، لذا تعیین آمار دقیق از میزان ابتلا، خصوصا در کشورهای در حال توسعه امکان پذیر نمی باشد.

بایستی توجه داشت که اغلب مواد غذایی به علت دارا بودن بافت خاص و همچنین از نظر در دسترس بودن مواد مغذی محل مناسبی برای رشد و نگهداری میکروارگانیسم ها می باشد همچنین غذا می تواند به عنوان یک حامل،

بسیاری از میکروارگانیسم های بیماریزا و غیر بیماریزا را در خود حمل کند و در بعضی شرایط رشد این میکروارگانیسم ها را حمایت کرده و به عنوان ناقل فعال عمل نموده و در بعضی اوقات هم تنها نقش ناقل غیر فعال را ایفا نماید که در این صورت عامل بیماری در غذا رشد نموده و تنها به وسیله غذا به انسان منتقل می شود. بیماری های غذایی از نظر تقسیم بندی جزء بیماری های روده ای تقسیم بندی می شوند که از نظر اهمیت در آمریکا بعد از بیماری های ریوی در مقام دوم قرار دارند. در یک بررسی در ایالات متحده در آمریکا گزارش شده که به طور متوسط هر آمریکایی حداقل هر سال یک بار به بیماری روده ای با علامت اسهال مبتلا می شود. گفته می شود که این مسئله به خاطر ناسالم بودن غذای تولید شده در این کشور نیست بلکه مردم با فرایندهای پروسس شده نامناسب و غیر بهداشتی و یا از طریق انتقال عوامل بیماریزا خود غذا را ناسالم می کنند. از دیدگاه بهداشت عمومی، مسمومیت های غذایی یکی از عمده بیماری های جوامع بشری به شمار می رود. در کشورهای صنعتی مشکل کمتر از این هاست ولی به طور معنی داری هنوز از اهمیت خاصی برخوردار است. مسمومیت های غذایی به دو طریق مستقیم و غیر مستقیم در اقتصاد کلی نیز تاثیر گذار هستند. در مورد تاثیر مستقیم یا معالجات پزشکی، مسمومیت های غذایی که در موارد وقوع بزرگ آن ها می تواند بسیار پرهزینه باشد خصوصا اگر مسئله رفع مشکل و پرداخت خسارت مطرح شود؛ و تاثیر غیر مستقیم مسمومیت های غذایی در اقتصاد ملی می تواند مواردی مثل ضررهای مالی در کاهش صادرات مواد غذایی و هزینه های تحقیقاتی جهت پیشگیری از مسمومیت های غذایی باشد (James, 2005).

تاثیر مسمومیت های غذایی از نظر اجتماعی و سیاسی نیز حائز اهمیت فراوانی است. ارتباطات می تواند در اثر بروز مسمومیت های غذایی تحت تاثیر قرار گیرد (Makwana et al, 2014).

طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی بیماری های ناشی از مصرف غذا و آب آلوده سالانه ۲/۲ میلیون نفر را در جهان می گیرد که ۱/۹ میلیون نفر از قربانیان کودکان هستند، با توجه به این گزارشات و لزوم تامین امنیت غذایی جامعه، تولید مواد غذایی سالم، ایمن و با کیفیت یکی از اهداف مهم تولید کنندگان مواد غذایی به شمار می رود،

غذاهای فاسد شده علاوه بر آسیب به سلامت مصرف کننده به تولید کننده نیز از لحاظ اقتصادی ضربه می زند (Makwana et al, 2014).

تخمین زده می شود سالانه حدود یک سوم جمعیت کشورهای توسعه یافته دچار بیماریهای انتقال یافته از غذا می شوند، بیش از ۲۵۰ عامل میکروبی، فیزیکی و شیمیایی مسئول این بیماریها هستند، در سال ۲۰۱۱ مرکز کنترل بیماریهای امریکا برآورد کرده که سالانه ۱۲۸ هزار نفر بر اثر بیماریهای منتقله از غذا بستری می شوند و ۳ هزار نفر از آنها می میرند (Makwana et al, 2014).

بیماریهای با منشاء میکروبی و قارچی در زمره شناخته شده ترین بیماریهای هستند که از گذشته تا به حال گریبان گیر انسان بوده است و به همین منظور تلاشهایی زیادی برای شناخت، کنترل و درمان این عوامل بیماریزا انجام شده است (محمدپور و همکاران، ۱۳۸۹).

شیوع بیماریهای منتقله از غذا به عنوان وقوع دو یا چند مورد از بیماری مشابه ناشی از مصرف مواد غذایی رایج است. بیماری های منتقله از غذا معمول هستند اگر چه قریب به اتفاق اکثر موارد تشخیص داده نمی شوند و یا گزارش نمی شوند زیرا قبل از یک عفونت منتقله از غذا باید یک زنجیره پیچیده ای از وقایع رخ دهد. شکستن در هر نقطه ای از زنجیره در یک مورد، منجر به عدم گزارش خواهد شد؛ به عنوان مثال، در طی سالهای ۱۹۹۰ تا ۲۰۰۸ در مجموع ۱۷۰۹۴ شیوع بیماریهای منتقله از غذا در ایالات متحده گزارش شده است، این شیوع به دلیل گزارش ۳۷۰۲۶۶ نفر بیمار بوده است. با این حال، این تخمین زده شده که بیماری های منتقله از غذا ممکن است در ۷۶ میلیون بیماری، هر ساله در آمریکا منجر به بستری شدن ۳۲۵۰۰۰ در بیمارستان و ۵۰۰۰ مرگ شود، در انگلستان و ولز، بیماری های منتقله از غذا سالانه منجر به برآورد ۱/۳ میلیون مورد، ۲۱۰۰۰ بستری شدن در بیمارستان و ۵۰۰ مرگ شود در همین حال، در استرالیا، در ۵/۴ میلیون مورد، سالانه ۱۵۰۰۰ بستری شدن در بیمارستان و ۱۲۰ مرگ و میر گزارش شده است. این نمونه ها نشان داد که تعداد زیادی از بیماری های منتقله از غذا معمولاً، با توجه به زنجیره پیچیده ای از روش های گزارش دهی و نظارت، گزارش نمی شوند (Soon et al, 2011).

امروزه مصرف کنندگان مواد غذایی تمایل بیشتری نسبت به مصرف غذاهایی که عاری از مواد شیمیایی هستند و در آنها موادی با منشاء طبیعی برای نیل به اهداف خاصی به کار رفته است از خود نشان می دهند به همین دلیل اخیراً مطالعات زیادی روی جایگزین کردن مواد طبیعی به عنوان نگهدارنده (جایگزین نگهدارنده های شیمیایی) در غذاهای مختلف صورت گرفته است از جمله ترکیبات طبیعی که می توانند به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی به کار روند اسانس های گیاهی هستند. عصاره و اسانس های گیاهی به دست آمده از گیاهان معطر دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضدقارچی، ضد اکسایشی و ضد سرطانی بوده و قادر هستند رشد پاتوژن ها و تولید سم توسط میکروارگانیسمها را کنترل کنند (یلمه و همکاران، ۱۳۹۳. برزگر و همکاران، ۱۳۸۷).

۱-۱- میکروارگانیسم های مورد مطالعه و خصوصیات آنها

۱-۱-۱- استافیلوکوکوس اورئوس

جنس استافیلوکوکوس حاوی بیش از ۳۰ گونه است و آن هایی که در مواد غذایی مورد توجه قرار میگیرند ۱۸ گونه هستند. گونه های استافیلوکوکوسی با میزبان سازگاری پیدا می کنند و میزبان نیمی از گونه های شناخته شده تنها انسان (مثل استافیلوکوکوس کوهنی زیر گونه کوهنی) یا انسان و سایر حیوانات (مثل استافیلوکوکوس اورئوس) می باشد اکثر حیوانات اهلی ناقل استافیلوکوکوس اورئوس می باشند ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس ها در میان گله های دام های شیری متداول است و اگر شیر تهیه شده از گاوهای آلوده مصرف شده یا برای پنیساز استفاده شوند احتمال بیمار شدن انسان زیاد است. به احتمال زیاد بسیاری از نژادهای این ارگانیسم که عامل ورم پستان می باشند منشاء انسانی دارند، اگرچه بعضی از آنها بطور اختصاصی نژادهای حیوانی نامیده می شوند، استافیلوکوکوس ها از لحاظ نیاز به بعضی ترکیبات آلی نمونه بارزی از سایر باکتریهای گرم مثبت می باشند، اسیدهای آمینه به عنوان منبع ازت و از میان ویتامینهای گروه B، تیامین و نیکوتیک اسید مورد نیاز این باکتری ها می باشند این باکتری ها در صورت رشد در شرایط بیهوازی به اوراسیل نیاز دارند (James, 2005).

استافیلوکوکوس اورئوس کوکسی گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری است که مهمترین گونه استافیلوکوکوس ها از نظر پزشکی محسوب می‌شود. گاهی اوقات به این باکتری، استافیلوکوکوس طلایی نیز می‌گویند. اورئوس در زبان لاتین به معنای طلایی است. استافیلوکوکوس ها کوagulaz، کatalaz و ترمونوکلئاز مثبت هستند ولی اکسیداز منفی هستند. استافیلوکوکوسها بطور کلی مزوفیل هستند و محدوده دمایی رشد آنها بین ۶ تا ۴۸ درجه سانتیگراد است و pH بین ۴ تا ۱۰ را تحمل می‌کنند، قادرند در غلظت ۱۰ درصد نمک رشد کنند و حداقل $aw=83\%$ را تحمل می‌کنند. این باکتری ممکن است به شکل فلور عادی پوست یا بینی وجود داشته باشد. این طور تخمین زده می‌شود که ۲۰ درصد از مردم به مدت طولانی، ناقل باکتری باشند در کشاله ران، زیر بغل، مجاری بینی، اندام تناسلی و هر جا که مرطوب است یافت می‌شود در نواحی مرطوب بدن ۱۰۰ تا یک میلیون در هر سانتیمتر مربع از بدن و در نواحی خشک بدن این میزان ۱۰-۱۰۰۰ می‌باشد. استافیلوکوکوس اورئوس، یکی از موفق ترین باکتری‌های بیماری‌زاست. این باکتری به دلیل تولید رنگدانه طلایی کارتنوئیدی به نام استافیلوزانتین^۱، کلنی‌های زرد رنگی را ایجاد می‌نماید. این پیگمان در بیماری‌زایی نقش دارد زیرا به عنوان ماده آنتی اکسیدان عمل کرده و موجب در امان ماندن باکتری در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود. رادیکال‌های آزاد اکسیژن توسط سیستم ایمنی (گلوبول‌های سفید) میزبان برای کشتن باکتری‌ها تولید می‌شوند (Clauditz et al, 2004).

استافیلوکوکوس اورئوس، گستره وسیعی از عفونت‌ها از عفونت‌های ساده پوستی (مانند جوشدانه، کورک، کفگیرک، گل مژه و آبسه) گرفته تا بیماری‌های تهدید کننده زندگی (مانند پنومونی، مننژیت، استئومیلیت، اندوکاردیت، سندرم شوک سمی و سپتی سمی) را ایجاد می‌نماید. استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یکی از ۵ عامل شایع ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی به ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی است. هر سال، ۵۰۰ هزار نفر در بیمارستان‌های ایالات متحده امریکا به عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس مبتلا می‌شوند. این باکتری، آنزیم کatalaz را تولید می‌کند. آنزیم کatalaz موجب تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به آب و اکسیژن می‌شود. از این تست برای تمایز استافیلوکوکوس‌ها از استرپتوکوک‌ها و انتروکوک‌ها استفاده می‌شود. استافیلوکوکوس اورئوس، آنزیم کوagulaz را

1- staphyloxanthin

تولید می‌کند. این آنزیم، خون را لخته می‌کند. سایر گونه های استافیلوکوکوس از نظر کواگولاز منفی هستند (Clauditz et al, 2004 & Kluytmans et al, 1997).

۱-۱-۲- مسمومیت غذایی

بطور کلی انتظار می رود که استافیلوکوکوس ها (حداقل به مقدار کم) در هر نوع ماده غذایی با منشأ حیوانی یا مواد غذایی که در تماس با دست قرار می گیرند، وجود داشته باشند این باکتری در بسیاری از مواد غذایی تجاری یافت شده است، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاومت زیادی نسبت به حرارت ندارد ولی انتروتوکسین آن که از نوع نورو توکسین می باشد بسیار به حرارت مقاوم است پس احتمال مسمومیت در مواد غذایی که خود ارگانیسم زنده نیست وجود دارد انتروتوکسین استافیلوکوکوس یک پروتئین ساده است که با هیدرولیز آن ۸ اسید آمینه استخراج شده که مهمترین آنها اسپارتیک، گلوتامیک، لیزین و تیروزین است. با تولید انتروتوکسین در غذا موجب گاستروانتریت و مسمومیت غذایی می شود. مسمومیت غذایی خود محدود شونده است و به درمان خاصی نیاز ندارد. بیمار پس از ۸ تا ۲۴ ساعت بهبود پیدا می کند. علائم مسمومیت غذایی ۲-۴ ساعت بعد پس از مصرف غذای آلوده بروز می کند و شامل اسهال، استفراغ، گرفتگیهای شدید شکمی، تعرق، سردرد و گاهی اوقات کاهش دمای بدن است و در طی ۱-۲ روز خودبه خود خوب می شود مرگ و میر مسمومیت با این باکتری بسیار کم و نزدیک به صفر می باشد (James, 2005).

۱-۱-۳- باکتری اشرشاکلی

در سال ۱۸۸۵، اولین بار تئودور اشریش^۱ درحین تلاش برای یافتن عامل شیوع وبا این باکتری را در مدفوع افراد بیمار پیدا کرد و آن را باکتریوم کلی کامون^۱ نامید (Makwana et al, 2014).

^۱- Theodor Escherich

شاردینگر اولین کسی بود که این ارگانیزم را به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی پیشنهاد کرد چون جداسازی و شناسایی این ارگانیزم در مقایسه با سایر عوامل بیماریزای موجود در آب راحت تر می باشد (James, 2005). اشرشیا کلی در سال ۱۹۷۱ به عنوان یک عامل بیماریزای غذایی مطرح شد. در این سال پنیرهای وارداتی توزیع شده در ۱۴ ایالت آمریکا به یک نژاد تهاجمی روده ای آلوده شده بودند که حدود ۴۰۰ نفر را بیمار نمودند قبل از سال ۱۹۷۱ حداقل ۵ مورد از شیوع بیماری های ناشی از مواد غذایی در سایر کشورها گزارش شده بود که اولین آنها در سال ۱۹۴۷ در انگلستان بود شواهد نشان می دهد که این باکتری بیماریزا در اوایل دهه ۱۷۰۰ به عنوان عامل اسهال مسافران شناخته شده بوده است (Gorham et al, 2001).

اشرشیاکلی یک باکتری گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است، این باکتری بیهوازی اختیاری و بدون اسپور می باشد. باکتری های اشرشیاکلی، اغلب متحرک می باشند. این باکتری در شرایط بی هوازی، مخلوطی از اسیدها مانند لاکتات، سوکسینات، اتانول، استات و دی اکسید کربن را تولید می کند رشد بهینه باکتری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد است اما تا دمای ۴۹ درجه را نیز تحمل کرده و به رشد خود ادامه می دهند. اشرشیاکلی هم در شرایط هوازی و هم بی هوازی می تواند رشد کند. سویه ها داری تاژک هستند و به خاطر همین، متحرک هستند. تازه ها متعدد و از نوع پیرامونی^۲ هستند.

باکتری اشرشیاکلی به صورت عادی در دستگاه گوارش انسان زندگی می کند و معمولاً بیماری زا نیست، ولی سویه های خاصی از این باکتری تحت شرایط خاص می توانند بیماری های مختلفی ایجاد کنند. باکتری اشرشیاکلی که در روده جانداران خونگرم (منجمله انسان) زندگی می کند؛ از گلوکز تغذیه می کند و در غیاب گلوکز از لاکتوز هم به عنوان منبع انرژی استفاده می کند. بعنوان مثال، وقتی یک محصول لبنی می خوریم، دی ساکارید لاکتوز در دسترس این باکتری قرار می گیرد. در این هنگام با ساختن آنزیم های لازم که برای جذب و تجزیه لاکتوز هستند از این قند به عنوان منبع انرژی استفاده می شود. از جمله ویژگی های این باکتری می توان به مواردی مانند اینکه بطور طبیعی در ساخت ویتامین K₂ و همچنین جلوگیری از رشد میکروبهای مضر در روده انسان موثر است اشاره کرد، دومین

۲- Bacterium coli commune

۱-peritrichous

باکتری از لحاظ فراوانی در روده است. (بعد از باکترئیدس) شاخص الودگی آب شهری به فاضلاب است. بیماری هایی که عامل آن به حساب می آید در دو دسته عفونت های روده ای و غیر روده ای قرار دارند. بیشتر موارد آلودگی به عفونت های غیرروده ای و به خصوص عفونت های ادراری در سالمندان دیده شده است. عفونت های گوارشی ناشی از این باکتری بسته به سویه خاص باکتری به صورت اسهال ساده تا اسهال همراه با خون است و با تأمین آب و الکترولیت های مورد نیاز بدن درمان می شود و نیازی به مصرف آنتی بیوتیک نیست. به طور کلی اشرشیا کلی، علت شایع مسمومیت غذایی است. برخی از گونه های آن به طور طبیعی در روده حیوانات و انسان یافت می شود. این باکتری ها از طریق دست های آلوده به مدفوع، گوشت خام، شیر، طیور، آبمیوه غیر پاستوریزه و فراورده هایی دریایی منتقل می شود. کالباس، سوسیس و کاهو نیز این باکتری را منتقل می کنند. پس از ورود این باکتری از طریق دهان، این باکتری وارد روده ها می شود و به سلول های مخاط روده می چسبد و شروع به تکثیر میکند و هنگامی که تعداد آنها زیاد شود، همگی شروع به آزاد کردن سم می کنند. سم ناشی از باکتری ها، مخاط روده را تخریب و دردهای شدید شکمی و اسهال را ایجاد می کند. بیشتر از ۲۰۰ سروتیپ از اشرشیاکالای وجود دارد که بر اساس علائم و ویژگیهای بیماری و همچنین تاثیر بر بعضی از کشت های سلولی و گروه بندیهای سרولوژیکی، ۵ گروه تهاجمی از اشرشیاکلی شناخته شده است تیپهای (ETEC)^۱ با تولید سم و تیپهای (EPEC)^۲ با آسیب مستقیم و تیپهای (EIEC)^۳ با تهاجم بافتی می توانند ایجاد اسهال بنمایند. اسهال اغلب خفیف است ولی در تیپهای مهاجم تر مانند اشرشیا کلی انتروهموراژیک (EHEC)^۴ می تواند خونی باشد دیگر تیپ مهاجم این گروه (EAggEC)^۵ است که به آن انتروادرانت نیز می گویند و وابستگی نزدیکی به EPEC دارد (James, 2005).

مهمترین عامل اسهال مسافران اشرشیاکلی (به خصوص تیپهای (ETEC) می باشد. البته باکتریهای مانند شیگلا و کامپیلو باکتر نیز می توانند عامل اسهال مسافران باشند. اسهال مسافران اغلب نیازی به درمان آنتی بیوتیکی ندارد و فقط باید اتلاف آب و الکترولیت را جبران نمود و کمتر از یک هفته بهبود می یابد. ولی در موارد شدید از کینولونها

1-Enterotoxigenic E. coli

2-Enteropathogenic E. coli

3-Enteroinvasive E. coli

4 - Enterohemorrhagic E. coli

5 - Entroaggregative E.coli

مانند سیپروفلوکساسین می‌توان استفاده کرد. گونه‌های اشریشیا کلی در خارج از روده مثلاً در مجاری ادراری، ملتحمه و ... نیز می‌توانند بیماری‌زا باشند.

اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک : (EPEC) عامل اسهال حاد آبکی به ویژه در کودکان است که بسیار به این میکروب حساس هستند. مخزن بیماری انسان بوده وافرادی که با امر غذا سر و کار دارند و همچنین فاضلاب می‌تواند به عنوان منبع آلودگی عمل نمایند .

اشریشیاکلی انترواینویسیو : (EIEC) عامل سندرم دیسانتری (التهاب روده بزرگ همراه با دفع مدفوع آبکی یا خون آلود) می‌باشد. مخزن این بیماری هم انسان بوده وافرادی که با امر غذا سر و کار دارند و همچنین فاضلاب می‌تواند به عنوان منبع آلودگی عمل نمایند .

اشریشیاکلی انتروتوکسیژنیک : (ETEC) عامل اسهال حاد آبکی معمولاً در مسافران می‌باشد. در این بیماری نیز انسان به عنوان مخزن وافرادی که با امر غذا سر و کار دارند و همچنین فاضلاب می‌تواند به عنوان منبع آلودگی عمل نمایند .

اشریشیاکلی انتروهموراژیک : (EHEC) سندرم اسهال خونی را در بیماران باعث می‌شود. مخزن بیماری گوساله و مدفوع گوساله، جابجایی گوشت، ابزار و وسایل و لبنیات می‌تواند در انتقال بیماری نقش منبع آلوده کننده را ایفاء نماید. شیر غیر پاستوریزه ، پخت ناکافی گوشت (مثل همبرگرها) هم می‌تواند یکی از دلایل شیوع این بیماری باشد (James, 2005).

۱-۱-۴- مسمومیت غذایی با اشریشیاکلی:

از ارگانیسم های آشنا و شناخته شده برای محققین باکتری شناسی است که به طور طبیعی در روده حیوانات خون گرم، انسان و پرندگان وجود دارد. اگرچه اشریشیاکلی به طور طبیعی در روده همه انسان ها وجود دارد ولی بدن ما قادر به پذیرش منابع خارجی آن نیست. اسهال ناشی از این میکروارگانیسم احتمالاً یکی از شایعترین علل در کودکان است. علائم و عوارض ایجاد شده توسط انواع گوناگون ارگانیسم بر حسب شدت متفاوت است. هنگامی که مسافران با فلور میکروبی کشورهای مختلف خود را تطبیق می دهند، اغلب شکل ملایمی از اسهال را تجربه می

کنند. اشرشیاکلای نخستین جاندارى که باروش‌های مهندسی ژنتیک مورد دست‌ورزی ژن قرار گرفت، در DNA حلقوی این باکتری باز گوانین (G) بیشتر از سایر بازها حضور دارد. تعداد باکتری‌های اشریشیاکلی حاوی پلاسمید مورد آزمایش در اثر تکثیر باکتریایی زیاد می‌شود و در نتیجه تعداد پلاسمیدهای کپی‌شده در باکتری‌ها نیز افزایش می‌یابد به این دلیل در ژنتیک مولکولی از این نوع باکتری بسیار استفاده می‌شود. مدت زمانی که طول میکشد تا علائم بیماری بروز کند در واقع دوره کمون آن بسته به نوع اشرشیا کلای از ۸ ساعت تا ۲۴ ساعت متغیر است از علائم آن می‌توان به مدفوع شل و آبکی، حالت تهوع، استفراغ، فوریت برای رفتن به توالت، تب، سردرد، دفع دردناک و مدفوع خونی اشاره کرد. انتقال بیماری از طریق (انسان - موادغذایی - انسان) می‌باشد. این بیماری در نقاطی شایع می‌باشد که بهداشت رعایت نمی‌شود. معمولاً اسهال مسافران به سرعت ایجاد نمی‌شود و ممکن است ۲ تا ۳ روز بعد از خوردن یا هنگام بازگشت به منزل ایجاد گردد مواد غذایی در معرض خطر: گوشت، ماهی، شیر و آب آلوده در معرض خط آلودگی به این باکتری هستند و مهمترین منبع آلودگی، سبزی‌های خام و سالاد می‌باشد. از جمله کارهایی که برای پیشگیری می‌توان انجام داد: کنترل بهداشت کارگران آشپزخانه، کنترل آب مصرفی. عدم مصرف سالاد و سبزی خام در رستورانها به ویژه غذاخوری‌های بین‌راهی و شستن دست‌ها و همچنین حرارت دادن کافی ماده غذایی یکی از عوامل عمده پیشگیری از انتقال بیماری است. روش‌های انتقال: تماس مستقیم هنگام خرد کردن گوشت، ماهی و گوشت خام و غذاهای گوشتی نیمه پخته، استفاده از آبلیمو و فرآورده‌های لبنی غیر پاستوریزه، خوردن سبزیجات خام بدون ضدعفونی کردن، استفاده از آب آلوده و یخ‌های بین‌راه (عرضه غیر بهداشتی) و استفاده از غذای دوره گرد‌های خیابانی همگی می‌توانند در انتقال بیماری نقش موثری داشته باشند (Gorham et al, 2001 & Ferdous et al, 2012 & Darnton et al, 2007).

۱-۱- نگهدارنده‌های شیمیایی

استفاده از مواد شیمیایی برای جلوگیری یا به تأخیر انداختن فساد مواد غذایی تا اندازه‌ای به علت موفقیت زیاد کاربرد این ترکیبات در درمان بیماریهای انسان، حیوان و گیاه بوده است. اگرچه تعداد زیادی از ترکیبات شیمیایی

نگهدارنده هایی غذایی موثری هستند ولی تا حد زیادی به علت قوانین سخت گیرانه مربوط به ایمنی مواد غذایی که توسط FDA وضع شده و تا حد کمتری نیز به این علت است که تمام ترکیباتی که در شرایط آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی از خود نشان می دهند هنگام افزودن به بعضی مواد غذایی چنین اثری ندارند، تنها تعداد کمی از آنها برای استفاده در مواد غذایی مجاز می باشند (James, 2005).

امروزه غذاهای پروسس شده ۷۵ درصد رژیم غذایی جوامع غربی را تشکیل می دهد (Zengin et al, 2011). در صنعت غذا تعدادی از نگهدارنده هایی شیمیایی کاربرد دارد که بعضی از آنها در اینجا توضیح داده خواهد شد:

۱. اسید بنزوئیک و نمک آنها
۲. اسید سوربیک و نمکهای آنها
۳. اسید پروپیونیک و نمک آنها
۴. دی اکسید گوگرد و سولفیت ها
۵. نیتريت و نیترات ها

۱-۲-۱- اسید سوربیک و نمکهای کلسیم، سدیم و پتاسیم

به عنوان نگهدارنده ی مواد غذایی استفاده می شود معمولاً در غلظت کمتر از ۲٪. درصد مواد غذایی مجاز می باشد و در غذاهای اسیدی موثرتر است و در pH کمتر از ۶ بیشترین اثر را دارد، اثر آنها به عنوان یک بازدارنده ی قارچی مشابه بنزوات است. بیشترین استفاده از سوربات ها به عنوان یک ماده ی ضد قارچ در مواد غذایی نظیر انواع پنیر، فراورده های نانوائی، آبمیوه ها، نوشیدنیها، سس های سالاد و مانند اینها می باشد.

۱-۲-۲- اسید پروپیونیک

یک اسید آلی سه کربنه می باشد کاربرد این اسید و نمک کلسیم و سدیم در نان، انواع کیک و بعضی پنیرها مجاز است این ترکیب عمدتاً یک بازدارنده کپکی است. اسید پروپیونیک برای جلوگیری از فساد طنابی شدن در خمیر نان

نیز کاربرد دارد این اسید و نمکهای آن تمایل کمی به تفکیک شدن دارند و بنابراین در غذاهای کم اسید فعال می باشند این ترکیب در برابر کپک ها بسیار اختصاصی هستند و اثر بازدارندگی آنها در برابر کپک ها بیشتر از آنها در جلوگیری از رشد است (James, 2005).

۱-۲-۳- دی اکسید گوگرد و سولفیت ها

دی اکسید گوگرد (SO_2)، نمک های سدیم و پتاسیم سولفیت ($SO_3=$)، بی سولفیت (HSO_3-) و متا بی سولفیت ($S_2O_3=$) دارای اثر مشابهی می باشند. دی اکسید گوگرد به شکل گازی یا مایع، یا به شکل یک یا چند نمک اسیدی یا خنثی برای میوه های خشک در آبلیمو، ملاس، انواع شراب، آبمیوه ها و مواد غذایی دیگر استفاده می شود. این ترکیب از زمان های باستان به عنوان یک نگهدارنده ی غذایی استفاده می شده است. کاربرد آن برای نگهداری گوشت در ایالت متحده حداقل به سال ۱۸۱۳ بر می گردد، البته استفاده از این ترکیب در گوشت و سایر مواد غذایی حاوی تیامین مجاز نیست. اگرچه SO_2 دارای اثرات ضد میکروبی است، اما در بعضی مواد غذایی به عنوان آنتی اکسیدان عمل می کند (James, 2005).

۱-۲-۴- نیتريت و نترات ها

ترکیبات نیتريت به خصوص نیتريت سدیم ($NaNO_3$) افزودنی چندمنظوره ای است که در گوشت های عمل آوری شده کاربرد دارد، علاوه بر خاصیت ضد میکروبی در مقادیر کم، برای ایجاد رنگ و عطر و طعم نیز استفاده می شود. در حقیقت ترکیبات نیتريت و نترات برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم ها، به خصوص کلستریدیوم بوتولینوم و ایجاد رنگی صورتی و طعم مناسب در گوشت های عمل آوری شده، استفاده می شود، نیتريت و نترات در محصول گوشتی، مرغ (ماکیان)، پنیر و همچنین محصولات از ماهی نیز به عنوان نگه دارنده استفاده می شوند. نیتريت به تنهایی ولی نترات زمانی که در اثر احیا به نیتريت تبدیل می شود اثر ضد میکروبی دارد. چگونگی مکانیسم اثر نیتريت روی باکتری ها هنوز کاملاً روشن نیست، ولی تصور می شود که نیتريت با تأثیر بر روی ترکیبات سولفیدریل موجود در میکروارگانیسم ها تغییراتی در آنها ایجاد می کند که سبب اختلال در متابولیسم و در

نهایت رشد و تکثیر میکربی می شود. اثر نگهداری نیتريت معمولاً با کاهش pH افزایش می یابد. نیتريت در بعضی از کشورها برای کنترل تولید گاز ناشی از رشد کلستریدیوم بوتیریکوم و کلستریدیوم تیروبوئییکوم در پنیر استفاده می شود. این ترکیب عموماً در برابر باکتریهای خانواده انتروباکتریاسه از جمله سالمونلاها و اسید لاکتیک باکتریها بی تاثیر است (James, 2005).

۱-۲-۵- بنزوات سدیم

نمک اسید بنزوئیک است با فرمول شیمیایی $C_7H_5NaO_2$ نمکی سفید، بی بو که بصورت کریستاله، پودری یا دانه ای یافت می شود، به راحتی در آب حل شده ولی در اتانول به سختی حل می شود. وزن ملکولی آن ۱۱۴/۱۱ می باشد، با افزایش درجه حرارت آب حلالیت آن افزایش می یابد. ۹۹ درصد آن ماده خشک می باشد و میزان اسید بنزوئیک آن ۸۴/۷ درصد می باشد در مواد غذایی با E-211 مشخص می شود (Türkoğlu Ş, 2007 & Makwana et al, 2014).

اولین بار در سال ۱۹۰۹ توسط دپارتمان کشاورزی امریکا بی ضرر بودنش تایید شد، طی ۳ تحقیق جداگانه، که خلاصه آن در کتابی به نام گزارش شماره ۸۸ منتشر شد در این گزارش آمده است که بنزوات اثر سوء بر سلامتی ندارد همچنین باعث اثر نامطلوب یا صدمه به کیفیت یا ارزش تغذیه ای مواد غذایی نمی شود (Stanojevic et al, 2009).

اسید بنزوئیک به مقدار کم در آلو، گوجه، دارچین، میخک و سیب یافت می شود. اسید بنزوئیک در فراورده های شیری تخمیری توسط اسید لاکتیک باکترها تشکیل می گردد هرچند فرایندهای غیر هوازی مانند متابولیسم فنل نیز می توانند در تشکیل بنزوات سدیم در پنیر دخالت کند (Zengin et al, 2011).

با اینکه اسید بنزوئیک نگهدارنده موثرتری است ولی به دلیل اینکه به خوبی در آب حل نمی شود از نمک آن استفاده می کنند که به راحتی در آب حل می شود، بنزوات سدیم اولین نگهدارنده ای بود که FDA استفاده از

آن را در مواد غذایی را مجاز دانست. فعالیت ضد میکروبی بنزوات رابطه ای با pH دارد به طوری که بیشترین فعالیت آن در pH پایین می باشد فعالیت ضد میکروبی به خاطر ملکول تفکیک نشده می باشد این ترکیبات در pH خنثی بی تاثیرند pK بنزوات معادل ۴/۲ می باشد و در pH معادل ۴، ۶۰ درصد این ترکیب به صورت تفکیک نشده است، در حالی که در pH معادل ۶ تنها ۱/۵ درصد آن تفکیک نشده می باشد. به همین علت کاربرد اسید بنزوئیک و نمک سدیم آن محدود به محصولات با اسیدیته زیاد می باشد، این میزان اسیدیته به تنهایی معمولاً برای جلوگیری از رشد باکتریها در مواد غذایی کافی است اما برخی کپک ها و مخمرها در این محیط های اسیدی رشد می کنند و بنزوات به اجبار به عنوان یک بازدارنده ی موثر در برابر کپک و مخمر عمل می کند. بایستی توجه کرد که بازدارندگی این ماده اگر در ابتدای پروسه تولید افزوده شود می تواند از فعالیت های آنزیمی جلوگیری کند استفاده از بنزوات سدیم در مواد غذایی که در حال فساد هستند توصیه نمی شود.

در مواد غذایی مثل آب میوه ها، بنزوات در غلظت حداکثر ۱٪ درصد طعم نامطلوبی را موجب می شوند این طعم به اصطلاح طعم فلفلی یا سوزان نامیده می شود (صفری و همکاران، ۱۳۹۰. میرشکاری و همکاران، ۱۳۸۹). بنزوات سدیم از راههای دهانی (خوردن و آشامیدن مواد غذایی و نوشیدنی ها) و پوستی استفاده از بنزوات در مواد آرایشی، بهداشتی و دارویی به بدن مصرف کننده می رسد (میرشکاری و همکاران، ۱۳۸۹). تولید سالانه اسید بنزوئیک در جهان ۶۳۸۰۰۰ تن و میزان بنزوات سدیم در جهان ۱۰۰۰۰۰ تن است

(WHO-2000)،

از این مقدار بنزوات سدیم حدود ۷۰ درصد بصورت نگهدارنده استفاده می شود (European Commission, 2005). کمیته مشترک سازمان بهداشت جهانی و سازمان خواربار و کشاورزی سازمان ملل متحد در خصوص افزودنیهای مواد غذایی (JECFA)^۱ حد مجاز بنزوات سدیم را ۵-۰ mg/kg/bw اعلام کرده است، در اتحادیه اروپا این میزان بین ۰/۱۵ تا ۰/۵ درصد و در آمریکا و ایران این مقدار ۰/۱ درصد می باشد (Zhang et al, 2013 & Lennerz et al, 2015).

1 - Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

۱-۲-۵-۱- بنزوات سدیم در مواد غذایی

بنزوات سدیم عمدتاً به عنوان نگهدارنده در مارگارین، سس سالاد، ترشیجات، شربت سیب، نوشابه های غیر الکلی، ترشی، سالاد میوه، ویفر، فراورده هایی نانوائی، مربا، ژله، آبمیوه ها، بیسکوئیت، کیک و کلوچه، رب گوجه فرنگی و سس سویا استفاده می شود (Zhang et al, 2013 & Mpountoukas et al, 2008 & Fujitani, 1993). درپنیرهای مختلف و در مواردی نیز استفاده از بنزوات سدیم در خاویار گزارش شده است (Beyoğlu, 2012 & Vernole et al, 1987). همچنین گزارشاتی مبنی بر وجود این ماده در شراب، آبجو و زیتون ذکر شده است (El-Ziney et al, 2009 & Huang, 1997).

تعیین بنزوات سدیم در مواد غذایی در آزمایشگاه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۲۲۴ نانومتر قابل تشخیص است (Somya et al, 2011 & Tsay et al, 2007).

۱-۲-۵-۲- بنزوات سدیم در صنعت دارویی

در صنعت داروسازی در شربت ها، در ظروفی که برای آماده سازی مایعات کاربرد دارد، در تهیه قرص و میزان ۲٪ تا ۴٪ درصد که باعث شفافیت قرص ها و روان سازی و تجزیه سریع آنها می شود، در صنعت داروسازی ماکزیمم غلظتی که از بنزوات سدیم استفاده می کنند تا ۵ درصد است و در تهیه لوازم آرایشی و بهداشتی نیز به کار برده می شود (Nascimento et al, 2004 & Kreindler et al, 1980).

۱-۲-۵-۳- سمیت بنزوات

اگرچه بنزوات سدیم اصولاً به عنوان یک ماده ایمن پذیرفته شده ولی مواجهه کوتاه مدت با آن می تواند باعث تحریک چشم، پوست و دستگاه تنفس شود ولی تماس طولانی مدت یا با تکرار بالا می تواند باعث حساسیت پوستی شود (Schaubschläger et al, 2009).

مصرف دوز بالای آن باعث رها شدن هیستامین و پروستاگلاندین، ایجاد زخم معده و تغییرات ترشحات موکوسی معده می شود (Eberechukwu et al, 2007 & Baker et al, 2014).

در مطالعه ای که سال 1987 صورت گرفت بنزوات سدیم توانست باعث بالا رفتن فشار خون و نهایتاً پارگی عروق در سلولهای خونی موش صحرایی شود (Oyanagi et al, 1987).

صدمه به غشاء سلولهای هپاتوسیت، اتصال به لایه خارجی واکوئل های میتوکندری در سیتوپلاسم و اختلال در کار سلولهای کبدی و کلیه ای از دیگر آثار نامطلوب مصرف بنزوات سدیم می باشد (Toth, 1984).

همچنین تحقیقاتی تشکیل بنزن در نتیجه واکنش بین اسید بنزوئیک و اسید اسکوربیک (ویتامین C) در حضور برخی کاتالیزورهای فلزی در نوشابه و آبمیوه ها را ثبت کرده است (Gardner et al, 1993).

۱-۳- اهداف و فرضیات :

۱-۳-۱- هدف اصلی طرح :

مقایسه اثر سینام آلدئید با بنزوات سدیم در جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری اشرشیاکلی و بر روی خواص فیزیکوشیمیایی در سس مایونز

۱-۳-۲- اهداف فرعی :

- تعیین اثر سینام آلدئید بر جلوگیری از رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در سس مایونز
- تعیین اثر سینام آلدئید بر جلوگیری از رشد باکتری اشرشیاکلی در سس مایونز
- تعیین اثر سینام آلدئید بر خواص فیزیکوشیمیایی سس مایونز
- مقایسه اثر نگهدارندگی سینام آلدئید با بنزوات سدیم بر جلوگیری از رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در سس مایونز
- مقایسه اثر نگهدارندگی سینام آلدئید با بنزوات سدیم بر جلوگیری از رشد باکتری اشرشیاکلی در سس مایونز
- مقایسه اثر سینام آلدئید با بنزوات سدیم بر خواص فیزیکوشیمیایی سس مایونز

۱-۳-۳- اهداف کاربردی :

در صورت مناسب بودن سینام آلدئید به عنوان ترکیب ضد میکروبی و نگهدارنده طبیعی جایگزین نگهدارنده های شیمیایی در فراورده های غذایی بویژه سس مایونز

۱-۳-۴- فرضیه ها یا سؤال های پژوهش:

- سینام آلدئید بر رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در سس مایونز اثر دارد؟
- سینام آلدئید بر رشد باکتری اشرشیاکلی در سس مایونز اثر دارد؟
- اثر سینام آلدئید با بنزوات سدیم بر خواص فیزیکوشیمیایی سس مایونز مشابه است؟.
- اثر نگهدارندگی سینام آلدئید و بنزوات سدیم بر جلوگیری از رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در سس مایونز مشابه است؟
- اثر نگهدارندگی سینام آلدئید و بنزوات سدیم بر جلوگیری از رشد باکتری اشرشیاکلی در سس مایونز مشابه است؟
- اثر سینام آلدئید با بنزوات سدیم بر خواص فیزیکوشیمیایی سس مایونز مشابه است؟

۱ ۴ - جدول متغیرها

عنوان متغیر	مستقل	وابسته	کمی		کیفی		تعریف علمی	مقیاس
			پیوسته	گسسته	اسمی	رتبه ای		
سس مایونز		*			*		ترکیبی از آب، روغن، تخم مرغ....	وجود یا عدم وجود بنزوات سدیم
سینام آلدئید	*		*					درصد
استافیلوکوکوس اورئوس 10536 (ATCC) 1399 اشرشیاکلی 6538 (ATCC) 1431		*		*			استافیلوکوکوس کوکسی گرم مثبت بیپهوازی اختیاری با تولید کلنی سیاه با هاله رسوبی اشرشیاکلی باکتری گرم منفی بیپهوازی اختیاری با کلنی های قرمز	تعداد
دما	*		*				دمای نگهداری سس مایونز	۲۵ و ۴
روز	*			*			روزهای مورد مطالعه	روزهای ۲، ۳، ۷، ۱۰ و ۳۰
رنگ		*				*		رتبه بندی (شدت رنگ)
pH		*	*					اسیدی یا قلیایی
خصوصیات حسی		*				*	طعم، عطر، احساس دهانی، احساس و غیر دهانی	رتبه بندی
محیط کشت		*	*			*	محیط های استاندارد که برای رشد میکروارگانیسمها مناسب است و معمولاً بصورت اختصاصی عمل می کند	تعداد کنی

هدف از مطالعه فوق آن است که می خواهیم اثر سینام آلدئید را به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در سس مایونز مورد بررسی قرار دهیم.

۱-۲- جدول مواد

سس مایونز	کارخانه سس بیدستان
باکتری اشرشیاکلی	کارخانه پارس حیان
باکتری استافیلوکوکوس اورئوس	کارخانه پارس حیان
محیط کشت مک کانکی آگار	کارخانه سس بیدستان
محیط کشت بر پارکر	کارخانه سس بیدستان
سینام آلدئید	شرکت سیگما

فصل دوم

بررسی متون

۲-۱- تاریخچه استفاده از اسانس

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان با زندگی انسان هم زمان بوده، و برای هزاران سال به عنوان دارو استفاده شده اند، که در آن سرنوشت جوامع و نتیجه جنگ در ارائه درمان مناسب بیماری ها، به ویژه بیماری های عفونی، قطعی شده است (van der Kooy et al, 2013).

قدمت استفاده از گیاهان دارویی، به معنی روند رو به کاهش آن در دنیای مدرن امروزی نیست، بلکه امروزه در جوامع صنعتی و در بسیاری از کشورهای پیشرفته و در حال توسعه، استفاده از طب سنتی و گیاهان دارویی برای حفظ سلامتی، به دلیل افزایش اعتماد مردم به استفاده از این گیاهان، بسیار چشم گیر است (Hyldgaard et al, 2012).

تحقیقات علمی مدرن با قابلیت تحلیلی پیشرفته برای عملکرد گیاهان دارویی تنها چند دهه رخ داده است، اما به دلیل تنظیم هدف تک دارویی عمدتاً کنار گذاشته شده است، در حالی که تمرکز به سمت شناسایی ترکیبات فعال مجزا منتقل شده است (هاشمی مقدم و همکاران، ۱۳۹۱).

گیاهان دارویی مخازن غنی از متابولیت های ثانویه و در واقع منابع موثره اساسی بسیاری از مواد دارویی می باشند؛ که یک یا برخی از اندام های آنها حاوی ماده ی مؤثره است. این ماده که کمتر از ۱ درصد وزن خشک گیاه را تشکیل می دهد، دارای خواص دارویی مؤثر بر موجودات زنده است. مسلماً اطلاعات مربوط به اثرات و خواص گیاهان دارویی از زمان های بسیار دور به دست آمده و سرانجام در اختیار نسل های معاصر قرار گرفته است. این تلاش ها تا به امروز هم ادامه یافته و در حال حاضر هم، با سرعت هرچه بیشتر پیش می رود. در عصر جدید تمایل مصرف کنندگان به استفاده کمتر از نگهدارنده های شیمیایی و سنتزی منجر به تحقیقات گسترده ای درباره فواید و مضرات مصرف ترکیبات دارای خاصیت ضد میکروبی شده است (گنجعلی و همکاران، ۱۳۹۲).

این یک واقعیت پذیرفته شده است که گیاهان دارویی که به طور سنتی استفاده می شوند از نظر شیمیایی پیچیده هستند، و این باعث می شوند که تعیین کارایی آن ها، سمیت یا مکانیسم عمل آن ها سخت باشد (van der Kooy et al, 2013).

۲-۲- کاربرد اسانس و ترکیبات موثره استخراجی از گیاهان

هرچند هدف اصلی استفاده از این مواد در مواد غذایی ایجاد طعم و مزه می باشد، بسیاری از ادویه جات فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی دارند. در تمام موارد، فعالیت ضد میکروبی ناشی از ترکیبات شیمیایی خاص یا روغنهای اساسی می باشد در اواخر دهه ی ۱۹۷۰ در جست و جوی عوامل کاهش دهنده ی مصرف نیتريت، ادویه جات و عصاره های آنها مورد توجه خاصی قرار گرفت (James, 2005).

اسانس های گیاهی، مخلوط های کمپلکسی از ترکیبات فرار تولید شده توسط ارگانیسم های زنده در اندام های مختلف گیاهان بوده که توسط روش های فیزیکی چون عصاره گیری و تقطیر از همه گیاه، یا بخش هایی از گیاه به دست می آیند. در تعریف دیگر اسانس های گیاهی ترکیبات معطر، آب گریز، تغلیظ شده و فراری هستند که در سلول ها و کرک های ترشحي منفرد یا مجتمع، غده های ترشحي، مجاری ترشحي در قسمت های سطحی و درونی اندام های مختلف از جمله برگ، گل، میوه، جوانه و شاخه های گیاهان وجود دارد (Negi, 2012).

در واقع اسانس ها مخلوطی از مواد مختلف با ترکیبات شیمیایی بسیار متفاوت از یکدیگر بوده و دارای بوی بسیار نافذی می باشند. در دمای محیط اسانس ها در مجاورت هوا تبخیر می شوند به همین دلیل آنها را روغن های فرار می نامند (هاشمی مقدم و همکاران، ۱۳۹۱).

با توجه به فارماکوپه نسخه ۷ اروپا، اسانس با این عنوان تعریف می شود: "محصولی بودار، به طور کلی یک ترکیب پیچیده، از مواد خام یک گیاه تعریف شده، که یا به وسیله تحریک توسط بخار آب، یا به روش تقطیر خشک یا با استفاده از روش مکانیکی مناسب بدون گرمایش به دست آمده است. اسانس معمولاً از فاز آبی به روش فیزیکی جدا شده است که به تغییر قابل توجهی در ترکیب شیمیایی آن منجر نمی شود." با توجه به خاصیت آب گریزی و چگالی آنها که اغلب پایین تر از آب، آنها به طور کلی چربی دوست، در حلالهای آلی محلول، غیر قابل امتزاج با آب هستند. آنها را می توان از فاز آبی با دکانتور جدا کرد. اسانس ها بیوسنتز شده، انباشته شده و ذخیره شده در ساختار بافتی تخصصی، از غدد ترشحي هستند (El Asbahani et al, 2015).

دلیل اصلی تشکیل اسانس ها به خوبی مشخص نیست، ولی این ترکیبات به طور کلی بازمانده های ناشی از فرایندهای اصلی متابولیسم گیاهان به ویژه تحت تاثیر تنش ها می باشند که از نظر شیمیایی همگن نبوده و به صورت های مختلف اغلب با منشا ترپنی مشاهده می شوند (شهینیا و همکاران، ۱۳۹۱).

به طور کلی، اسانس می تواند شامل بیش از ۶۰ ترکیب آلی منحصر به فرد با وزن مولکولی کم و تفاوت های بزرگ در فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی باشد (Hyldgaard et al, 2012).

۳-۲- مکانیسم اسانس در بدن

از خصوصیات ماده ضد میکروبی ایده آل یکی این است که در حجم زیادی در دسترس باشد و دیگری اینکه اثر سوء بر سلامتی نداشته و عموماً ایمن شناخته شود و قبلاً بخشی از رژیم غذایی معمولی انسان بوده باشد (Callaway et al, 2011 & Chalova et al, 2010).

اسانس ها چون از نظر ساختمان به ترپنوئید های سیترال و سیترونلول، ژرانیل استات و لینالیل استات بستگی دارند در بدن به سرعت جذب می شوند. سیترونلول، ژرانیل و سیترال همان راه متابولیسمی را که منجر به اکسیداسیون و ایجاد اسید کربوکسیلیک می گردد طی می کنند، بعضی دیگر دکربوکسیله شده و قسمت باقیمانده اکسیده می شود و ۲-۶ دی متیل ۲-۶ اکتادی ان اوئیک اسید از سیترال و ژرانیل و فرم دی هیدروی اسید از سیترونلول حاصل می گردد. در مقدار مصرف کم اسانس، دکربوکسیلاسیون راه اصلی متابولیک است. در مقدار مصرف زیاد بعضی از ترپنوئید ها ممکن است بدون تغییر دفع شوند. دفع، سریعاً با گردش مختصر داخل کبدی انجام می گیرد. لینالول به سهولت به گلوکوروئید تبدیل می شود (مومنی و همکاران، ۱۳۸۹).

۴-۲- حد مجاز قابل قبول اسانس

اسانس ممکن است اثرات مفید ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد جهش زایی، آنتی ژنوتوکسیک و داشته باشد، اما علاوه بر این خواص، اسانس ممکن است اثرات بالقوه سمی مانند جهش زایی / سمیت ژنتیکی

نیز داشته باشد که نیاز دارد قبل از تماس با مواد مورد استفاده در مواد غذایی مورد ارزیابی قرار گیرد. علاوه بر این، ترکیب اسانس در بسته بندی مواد غذایی فعال می تواند منجر به مواجهه بیشتر انسان با این ترکیبات شود. بنابراین، تحقیقات بیشتری برای ایجاد غلظت موثر و ایمن اسانس مورد نیاز است (نقاش و همکاران، ۱۳۹۴). میزان مصرف قابل قبول اسانس ها بسته به نوع و ترکیبات تشکیل دهنده آن متفاوت است. مصرف بیش از حد اسانس باعث تحریک دستگاه گوارش شده ممکن است سبب تهوع، استفراغ و اسهال شود. همچنین امکان دارد گاهی ایجاد تحریک در دستگاه ادراری نموده، التهاب بوجود آمده شدید شده و باعث تحریک عمده شود. همچنین ممکن است ایجاد تشنج نماید. در ناراحتی های تنفسی ایجاد مسمومیت می کند. سیستم اعصاب مرکزی را ممکن است تضعیف نموده ایجاد برخی مشکلات تنفسی، هیجان و تشنج نماید (مومنی و همکاران، ۱۳۸۹).

۲-۴- استفاده از اسانس

امروزه مصرف کنندگان مواد غذایی تمایل بیشتری نسبت به مصرف غذاهایی که عاری از مواد شیمیایی هستند و در آنها موادی با منشأ طبیعی برای نیل به اهداف خاصی به کار رفته است از خود نشان می دهند به همین دلیل اخیراً مطالعات زیادی روی جایگزین کردن مواد طبیعی به عنوان نگهدارنده (جایگزین نگهدارنده های شیمیایی) در غذاهای مختلف صورت گرفته است از جمله ترکیبات طبیعی که می توانند به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی به کار روند اسانس های گیاهی هستند. عصاره و اسانس های گیاهی به دست آمده از گیاهان معطر دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضدقارچی آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی بوده و قادر هستند رشد پاتوژن ها و تولید سم توسط میکروارگانیسم ها را کنترل کنند (شهینا و همکاران، ۱۳۹۱. یلمه و همکاران، ۱۳۹۳. برزگر و همکاران، ۱۳۸۷). بسیاری از خواص آنها به روغن آنها و دیگر ترکیبات متابولیت ثانویه گیاهان مربوط است که اسانس های روغنی به طور طبیعی مواد ضد میکروبی ایجاد می کنند و در بسیاری از گیاهان نشان داده شده است که در انواع برنامه های کاربردی برای کاهش رشد و بقاء میکروارگانیسم ها موثر می باشند (Callaway et al, 2011).

اسانس ها توسط صنایع غذایی به عنوان عوامل طبیعی برای گسترش عمر مفید مواد غذایی استفاده می شوند. انواع گیاه و ادویه مبتنی بر خواص ضد میکروبی برای کاهش یا حذف باکتری های بیماری زا و افزایش کیفیت کلی محصولات غذایی استفاده می شود. منشأ ضد میکروبی گیاه توسط روش های مختلف، از مایعات روغنی معطر و

فرار از گل، جوانه، دانه، برگ، شاخه، پوست، چوب، میوه ها و ریشه گیاهان به دست آمده است. در برخی از آن ها مانند ترکیبات در پونه، میخک، دارچین، سیر، گشنیز، رزماری، جعفری، سنبل هندی، مریم گلی و وانیلین اثرات ضد میکروبی وجود دارد.

بیش از ۱۳۴۰ گیاه با ترکیبات مشخص ضد میکروبی وجود دارد و بیش از ۳۰۰۰۰ ترکیب از ترکیبات روغنی گیاهان حاوی گروه فنول جدا شده و در صنعت غذایی استفاده شده اند. با این حال، ویژگی های مفید تجاری ماده نگهدارنده تنها برای چند اسانس قابل دسترسی می باشد. این موارد برای ارزیابی بیشتر اسانس در مزرعه و سیستم غذایی مورد نیاز است. به تازگی روی استفاده از ادویه جات و اسانس آن ها به عنوان عوامل طبیعی نگهدارنده غذا برای گسترش ماندگاری مواد غذایی، کاهش یا حذف باکتری های پاتوژن و افزایش کیفیت کلی محصولات غذایی تمرکز شده است (تاج کریمی و همکاران، ۱۳۹۰).

در صنایع آرایشی و بهداشتی استفاده بسیاری از گیاهان در ساخت کرم های پوست، ضد شوره سر، شامپو، صابون، و عطر مرسوم است. اسانس ها نیز توسط شرکت های نوشیدنی و شرکت های مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرند. اسانس ها بخش مهمی از صنعت دارویی در قرن بیستم بوده اند. از آن ها به عنوان محصولات آروماتراپی، سیستم های سنتی پزشکی استفاده می کنند و در سیستم های مکمل دارویی به طور مداوم در ایالات متحده آمریکا، اروپا، آفریقا و در کشورهای آسیایی در حال افزایش است. اجزای اصلی این صنعت صدها میلیون دلاری دارویی، مکمل های دارویی و شرکت های غذایی هستند (Raut et al, 2014).

۲-۵-دارچین (Cinnamomun)

دارچین درختی است همیشه بهار از خانواده برگ بویان که از تمام قسمت‌هایی آن بوی معطر دارچین به مشام می‌رسد این درخت در سیلان و هندوستان می‌روید. از پوست خشک شده دارچین جهت مصارف درمانی استفاده می‌شود، دارچین با نام علمی *Cinnamomun verum* یا *Cinnamomun zeylanicum* درختچه ای از راسته

(*laurales*) تیره برگ بوها (*lauraceae*) از جنس دارچین ها (*Cinnamomun*) است. گیاه دارچین و بویژه پوست آن از جمله ادویه هایی است که از زمان باستان به عنوان دارو، چاشنی غذا و حتی خوشبوکننده ی قوی شناخته شده است، رویشگاه انواع گوناگون دارچین در مناطقی از شرق و جنوب شرق آسیا است و از این مناطق به کشورهای دیگر صادر می‌شود (جمشیدی و همکاران، ۱۳۹۲. محمدی فر، ۱۳۸۹).

درخت دارچین ۵ تا ۷ متر بلندی دارد و از جمله گیاهان همیشه سبز است و از تمام قسمت‌هایی آن بوی مطبوعی به مشام می‌رسد گل‌های آن در فواصل ماه‌های بهمن تا اوایل فروردین ظاهر می‌شود، برگ این درخت سبز تیره و گل‌های آن سفید رنگ است، گونه اصیل دارچین از گیاهان خودرو در مناطق سیلان و هند به شمار می‌رود و گونه های که امروزه در دیگر مناطق مانند ماداگاسکار می‌رویند بومی این مناطق نیستند و در گذشته وارد و کاشت شده اند، به عنوان مثال درخت دارچینی با نام علمی *C. cassia* که به اندازه گونه اصلی مطبوع و معطر نیست و در آسام ویتنام و هیمالیای شرقی به صورت خودرو می‌روید یا دارچین سفید با نام علمی *Canella Alba* که از پوست آن در داروسازی استفاده می‌شود و در جزایر آنتیل، فلوریدا، باهاما و برخی مناطق نزدیک این نواحی می‌رویند که فقط شباهت اسمی با دیگر انواع دارچین دارد و با آنها هم خانواده نیست (محمدی فر، ۱۳۸۹).

از برگ و شاخه های کوچک این درخت اسانس می‌گیرند. پوست شاخه های قطور را پس از کندن از درخت به صورت قطعات خشک لوله مانند و یا آسیاب شده در می‌آورند و وارد بازار می‌کنند.



شکل ۱ . تصویر برگ و پوست خشک شده دارچین (محمدی فر، ۱۳۸۹).



شکل ۲. تصویر پودر دارچین

هندیان از دارچین به عنوان ادویه، مصریان باستان به عنوان دارو، خوشبوکننده نوشیدنی ها و صورت های دیگر استفاده می کرده اند (محمدی فر، ۱۳۸۹).

۲-۵-۱ خواص دارچین

اسانس پوست دارچین حدود ۴ درصد وزن پوست درخت دارچین را تشکیل می دهد، البته بایستی توجه داشت که عوامل مختلفی در این میزان دخالت دارند، ولی ذکر این نکته خالی از لطف نیست که اسانس دارچین به تغییرات حرارتی حساس نیست (حسینی و همکاران، ۱۳۹۱. محمدیگی، ۱۳۸۷).

دارچین به عنوان تسکین دهنده درد، کنترل دیابت، درمان سرماخوردگی، خاصیت ضد عفونی کننده و ضد رماتیسمی، خاصیت ضد قارچی و ضد میکروبی به علت دارا بودن ترکیبات سینام آلدئید و اوینگنول، دارچین همچنین یک آنتی اکسیدان طبیعی محسوب می شود و می تواند از تکثیر سلولهای سرطانی جلوگیری کند (جمشیدی و همکاران، ۱۳۹۲. محمدیگی، ۱۳۸۷).

اسانس دارچین در آروماتراپی برای درمان برونشیت، سردرد، سوء هاضمه، افسردگی، تپش قلب و حالت تهوع توصیه می شود. اسانس دارچین قند خون را کنترل می کند، به این نحو که باعث می شود در متابولیسم گلوکز به انسولین کمتری نیاز باشد (Montes-Belmont et al, 1998).

اسانس دارچین یک آنتی اکسیدان است و به عنوان نگهدارنده طبیعی در برخی محصولات غذایی کاربرد دارد و مانع اکسیداسیون بیشتر ترکیبات می شود، دارچین می تواند رادیکالهای آزاد موجود در عروق را خارج نموده و سطح گلیسرید را پایین بیاورد (Whish, 1996).

۲-۵-۲- میزان تولید سالانه و مصرف اسانس دارچین

در حال حاضر سالانه حدود ۵ تن اسانس پوست دارچین در جهان تولید می شود که حدود ۲ تن آن در سریلانکا تولید می شود بازار اصلی این اسانس اروپای غربی (۵۰ درصد) و آمریکا (۳۳ درصد) است (محمدبیگی، ۱۳۸۷).

۲-۶- سینام آلدئید

پوست گیاه دارچین، دارای ۰/۵ تا ۲/۵ درصد اسانس است که قسمت عمده آن را سینام آلدئید، اوژنول و سینامیک اسید تشکیل می دهد تشکیل می دهد. همچنین ترکیبات فنلی مانند فلاندرل و سافرون، ترکیبات ترپنی مثل لیمونن و لینالول، ترانس سینام آلدئید، رزین و ترکیبات فیل پروپانی دیگری مثل هیدروکسی سینام آلدئید، ارتومتوکسی سینام آلدئید، سینامیل الکل و استات آن در اسانس یافت می شود. در پوست گیاه دارچین، تانن، موسیلاژ، پروسیانیدین های اولیگومری و مقدار جزئی از کومارین نیز وجود دارد. برای برخی از ترکیبات دارچین مانند سینام آلدئید، اوژنول و لیمونن اثر تسکین دهنده و برای ترکیباتی نظیر کومارین و سینامیک اسید اثر ضد التهابی به اثبات رسیده است (دشتی و همکاران، ۱۳۸۸. Jayaprakasha et al, 2011. Rao et al, 2014).

ترکیبات فنلی در گیاهان نقش عمده محافظتی را در برابر پاتوژنها ایفا می کنند سینام آلدئید یکی از ترکیبات جالب و مورد توجه محققین به عنوان یک ماده ضد میکروبی است که فعالیت آن بر علیه باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی به اثبات رسیده است (Makwana et al, 2014).

این ترکیب در قرن ۱۹ میلادی و از عصاره روغنی دارچین استخراج شد و از آن به بعد نقش مهمی در بحث محصولات دارویی، عطر، لوازم آرایشی و بهداشتی داشته است (Shen et al, 2015).

شرکت هایی تولید کننده مواد غذایی و نوشیدنی دارچین تولیدی سیلان را بیشتر استفاده می کنند در حالی که شرکت هایی دارویی عصاره روغنی دارچین این کشور را ترجیح می دهند (Rao et al, 2014).

جدول ۱-۲. مشخصات سینام آلدئید (Rao et al, 2014).

رنگ	زرد یا زرد مایل به سبز با بوی تند
نقطه جوش	درجه سانتیگراد ۲۵۰
نقطه اشتعال	درجه سانتیگراد ۱۰۰
شاخص انکسار در ۲۰ درجه	۱/۶۲۳-۱/۶۱۹
وزن مخصوص در ۲۰ درجه	۱/۰۵۸-۱/۰۴۸
وزن مخصوص در ۲۵ درجه	۱/۰۵۰-۱/۰۴۶
فشار بخار یا تبخیر در ۲۰ درجه	۰/۰۲ میلی متر جیوه
حلالیت در بی سولفیت	۱۰۰ درصد
خلوص	۹۸ درصد
عدد اسیدی	۱۰

اسامی دیگر سینام آلدئید به شرح ذیل است:

- ۱ - Cinnamal
- ۲ - Cinnamic aldehyde
- ۳ - PH enyl acrolein
- ۴ - 3-PH enylpropenal
- ۵ - 3-PH enyl-2-propen-1- al
- ۶ - 2-Propenal, 3-PH enyl

سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا سینام آلدئید را جزء مواد ایمن پذیرفته و در اتحادیه اروپا سینام آلدئید را به عنوان ماده ایمن پذیرفته که ممکن است در مواد غذایی بکار برده شود. کمیته افزودنیهای مواد غذایی کدکس در مورد سینام آلدئید آورده است که هیچگونه نگرانی در خصوص مصرف این ماده وجود ندارد. (JECFA No. 656)

کمیته مواد غذایی اتحادیه اروپا قانون ذکر کردن وجود ماده معطر سینام آلدئید را بخاطر حساسیت ها و آلرژیهای احتمالی به این ماده را بسته بندی محصولات حاوی این ترکیب را تصویب کرده است (7th Amendment to Council Directive 76/768/EEC).

سینام آلدئید جزء معطری است که در بسیاری از محصولات کاربرد دارد از جمله در مواد غذایی، محصولات آرایشی، شامپوها، صابون های توال، تمیز کننده های خانگی و دترجنت ها کاربرد دارد. حداکثر دوز مجاز در محصولاتی که با پوست در تماس هستند مانند محصولات آرایشی ۰/۰۵ درصد است و حداکثر دوز مجاز روزانه برای افرادی که محصولات را مصرف می کنند ۰/۰۰۲۶ میلی گرم بر کیلوگرم است.

تشخیص سینام آلدئید در دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۲۷۸ نانومتر صورت می گیرد. سینام آلدئید بعد از اینکه وارد بدن شد سریع به اسید سینامیک اکسید شده و بصورت اسید هیپوریک از ادرار دفع می شود (Xing et al, 2014).

انجمن سازنده عطر و طعم آمریکا (FEMA) اعلام کرده که که مصرف سینام آلدئید هیچگونه عارضه مزمن و غیر مزمنی نداشته و همچنین اعلام کرده است که هیچگونه اثر ژنوتوکسیتی و موتاژنی از این ماده گزارش نشده است

هرچند که یک ضد باکتری بسیار خوب بر علیه طیف گسترده ی از میکروارگانیسم ها است (Amalaradjou et al, 2009).

سینام آلدئید یک آروماتیک و جزء اصلی اسانس پوست دارچین است که بر علیه باکتریهای مختلف، قارچ ها و ویروس ها فعالیت دارد و مانع رشد آنها می شود. سینام آلدئید می تواند با گروه آمینی آمینو اسیدها و یا پروتین ها باند شده و یک ترکیب جدید بسازد در سیستم هایی غذایی سینام آلدئید یک گروه کربونیلی آزاد دارد که می تواند با گروه آمینی آمینو اسیدها ترکیب شده و یک محصول افزایشی بازی شیف (SCHIFF BASE ADDUCTS) را بسازد (Wei et al, 2011).

در خصوص ترکیبات اسانس دارچین در گونه های مختلف به نظر می رسد که سینام آلدئید جزء اصلی اسانس دارچین می باشد. با این حال سایر مواد دیگر موجود در اسانس دارچین با درصد در جدول ۲ آمده است:

جدول ۲-۲ - مقایسه مواد موثره موجود در اسانس گونه های مختلف دارچین (Wei et al, 2011).

c.zeylanicum عصاره پوست	c.osmoPH loeum عصاره روغنی برگ	c.zeylanicum عصاره پوست	c.zeylanicum عصاره پوست
سینام آلدئید : ۷۶/۹۵ بنزیل آلدئید : ۹/۹۴ سینویل استات : ۷/۴۴	سینام آلدئید : ۹۱ درصد	سینام آلدئید : ۶۵-۸۰ درصد اوژنول : ۵-۱۰ درصد	سینام آلدئید : ۷۹/۱ سینامیل استات : ۵/۲۳ اوژنول : ۴/۲۷ کاربوپیلن : ۰/۳
c.zeylanicum.blume عصاره پوست	c.zeylanicum. blume عصاره پوست	c.zeylanicum blume عصاره برگ	c.osmoPH loeum عصاره روغنی برگ
سینام آلدئید : ۶۸/۹۵ بنز آلدئید : ۹/۹۴ سینامیل استات : ۷/۴۴	سینام آلدئید : ۹۷/۷۰ درصد بتا کادینن : ۰/۹ درصد آلفا امورقن : ۰/۵ درصد آلفا کوپن : ۰/۸ درصد	α -pinene : ۰/۵ α -pehllandrene : ۰/۱۹ p-cymene : ۰/۷ Eugenol : ۸۷/۶	بنزیل آلدئید : ۳/۴۷ بنزن پروپانول : ۴/۴۷ سینام آلدئید سیس : ۶۴/۰ سینام آلدئید ترانس : ۸۸/۷۴ اوژنول : ۴۳/۰
c.zeylanicum عصاره پوست	c.burmannii عصاره پوست	c.burmannii عصاره روغنی برگ	c.zeylanicum عصاره پوست
Cinnam aldehyde: ۵۸/۷۱ α -murloene: ۴/۴۷ α -gurjune : ۳/۷۶ β -cubebene : ۳/۴۵ Eugenol : ۱/۵۲	سینام آلدئید : ۸۳/۶ درصد اوژنول : ۲ درصد	Eugenol: ۱۷/۵۶ Cinnam aldehyde : ۶۰/۱۷ bomeol : ۶/۹ α -terpineol : ۷۴/۰ Coumarin : ۱۳/۳۹	سینام آلدئید ۷۵ درصد
c.zeylanicum عصاره پوست	c.verum عصاره روغنی	c.osmoPH loeum عصاره روغنی برگ	c.zeylanicum عصاره پوست
سینامیل استات : ۵ اوژنول : ۴ درصد سینام آلدئید : ۹۵-۸۰ درصد کاربوپیلن : ۳ کومارین : ۷/۰ درصد لینالول : ۲ درصد	سینام آلدئید : ۴۶/۳۱ لینالول : ۶/۵۶ سینامیل استات : ۲/۰۵ اوژنول : ۸/۵۵ آلفا پینن : ۲/۷۳ بتا پینن : ۴/۲۴	سینام آلدئید : ۷۶ درصد اوژنول : ۱/۰۵ کومارین : ۲۶ درصد ۸۱ سینوتل : ۱۱/۳۲ لینالول : ۹/۸۳ سینامیل آلدئید : ۰/۴	Cinnam aldehyde : ۷۶/۳۴ 2-Propenal : ۱۱/۰۲ 2-Prop anone: ۴/۳۵

۲-۶-۱- مطالعات انجام شده در جهان

در مورد سینام آلدئید تا کنون کاری در ایران صورت نگرفته است و کارهای انجام شده درباره اثرات دارچین بوده است.

مطالعات انجام شده Makwana و همکاران در سال ۲۰۱۴ در امریکا اثر سینام آلدئید را در بسته بندیهای مواد غذایی بر روی باکتری های اشرشیا کلی و باسیلوس سرئوس را در غلظت هایی ۶۰-۲۰-۱۸۰ و ۲۴۰ میکروگرم در میلی لیتر به مدت ۶۰ ساعت بررسی کردند و دریافتند که سینام آلدئید توانایی کاهش تعداد باسیلوس سرئوس ۶,۲ log به حد غیر قابل تشخیص در مدت زمان ۴ ساعت و در بالاترین غلظت یعنی ۲۴۰ داشت و در مورد اشرشیا کلی بعد از ۴۸ ساعت و در ماکزیمم غلظت $\log 3/56$ از تعداد باکتری ها را کاهش داد ولی در غلظت هایی ۶۰ و ۱۲۰ تفاوت معنی داری با گروه شاهد نداشت (Makwana et al, 2014).

Xing و همکاران در سال ۲۰۱۴ در چین اثر حداقل بازدارندگی از رشد عصاره دارچین (حاوی ۸۵ درصد سینام آلدئید)، سینام آلدئید طبیعی ۹۵ درصد خلوص و سینام آلدئید سنتزی ۹۹ درصد خلوص را بر روی قارچ فوزاریوم ورتیسیلیویدیس^۱ را در غلظت هایی ۵ تا ۷۰ میکرو لیتر در لیتر را بصورت مضربی از ۵ در مدت ۲۰ روز بررسی کردند و نتیجه گرفتند که حداقل غلظت بازدارندگی عصاره روغنی دارچین برای این قارچ ۶۰ میکرو لیتر بر لیتر بوده است، درمورد خود سینام آلدئید طبیعی این عدد ۵۰ میکرو لیتر در لیتر بوده و سینام آلدئید سنتزی با درصد خلوص ۹۹ درصد نیز توانسته در غلظت ۴۵ میکرو لیتر در لیتر مانع از رشد این قارچ شود نتیجه گرفتند هر چقدر غلظت سینام بیشتر باشد اثر بازدارندگی از رشد بیشتر است (Xing et al, 2014).

Amalaradjou و همکاران در سال ۲۰۱۰ در امریکا اثر بازدارندگی از رشد سینام آلدئید را بر روی باکتری انتروباکتر ساکازاکی در شیر خشک نوزادان بررسی کردند در این تحقیق $\log 6$ از این باکتری را در ۱۰ نمونه های با حجم میلی لیتر از شیر خشک آماده شده که حاوی غلظتهای ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۵ درصد و ۰/۵ درصد از سینام آلدئید بود تلقیح کرده و نمونه ها را در دماهای ۳۷، ۲۳، ۸ و ۴ درجه سانتیگراد در بازه های زمانی ۰، ۶، ۱۰ و ۲۴ ساعت نگهداری کردند و در این فواصل زمانی جمعیت باکتریها در هر نمونه بررسی می شد، در تمام تیمارها نسبت به

1 - *Fusarium verticillioides*

گروه کنترل کاهش معنی داری در تعداد باکتریها داده شد و در غلظت ۰/۵ درصد در دو دمای ۳۷ و ۲۳ درجه سانتیگراد بعد از ۴ ساعت و در دماهای ۸ و ۴ درجه سانتیگراد بعد از ۱۰ ساعت تعداد باکتریها به حدی کاهش یافت که قابل تشخیص نبود (Amalaradjou et al, 2009).

Amalaradjou و همکاران در سال ۲۰۱۰ در امریکا اثر سینام آلدئید را بر روی *Escherichia coli* O157:H7 در گوشت گاو بررسی کردند بدین صورت که ۷ log از باکتری اشرشیاکلی را در گوشت تلقیح کرده، سپس غلظت هایی ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد از سینام آلدئید را به این گوشتی که بصورت پای در آمده بود اضافه کردند و به مدت ۵ روز در دمای ۴ درجه سانتیگراد و همچنین به مدت ۷ روز در دمای ۱۸- درجه نگهداری کردند بعد از مدت طی شده گوشت ها را از لحاظ تعداد باکتری شمارش کردند و مشاهده کردند که کاهشی در تعداد باکتری ها داده نشده بود، سپس گوشت ها را پخته به نحوی که دمای داخلی گوشت به ۶۰ و ۶۵ درجه سانتیگراد برسد بعد از طی این مرحله شمارش میکروبی آغاز شد و دریافتند که در گروه کنترل و در دمای ۶۰ درجه هیچگونه کاهش باکتری نداشته ولی در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به میزان ۳ log از تعداد اشرشیاکلی کاسته شد، اما در مورد گروه هایی که با سینام تیمار شده بودند در غلظت ۰/۳ درصد سینام آلدئید و دمای پخت ۶۵ درجه سانتیگراد هیچ نوع باکتری اشرشیاکلی مشاهده نشد، همچنین در گوشت هایی که به سینام آلدئید آغشته بودند پایداری رنگ گوشت بهتر بوده و شاخص اکسید شدن چربیها نسبت به گروه کنترل بطور معنی داری کاهش یافته بود (Amalaradjou et al, 2010).

Jo و همکاران در سال ۲۰۱۵ در کره جنوبی سینام آلدئید را بصورت ذرات نانو در بسته بندی آب هندوانه قرار دادند و اثر فیزیکی و آنتی میکروبی آن را در غلظت های ۰/۸ - ۲/۴ - ۴ - ۸ - ۱۶ - ۳۲ (wt%) بر روی باکتریهای سالمونلا تیفی موریوم، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی به مدت ۳۰ روز به روش انتشار آگار^۱ بررسی کردند و دریافتند که در غلظتهایی بالای ۰/۸ سینام آلدئید از رشد هر سه نوع باکتری ممانعت می کند و هر چقدر غلظت این ماده بیشتر شود اثر بازدارندگی بیشتر شده است (Jo et al, 2015).

1 - Agar disc diffusion assay

Wei QY و همکاران در سال ۲۰۱۱ در چین از ترکیب سینام آلدئید با یک آمینو اسید که در این پروژه آمینو اسید از پتاسیم گلیسینات استخراج و با سینام آلدئید ترکیب شده بود را با سینام آلدئید تنها و بنزوات سدیم را بر روی باکتری های باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و مخمر ساکارومایسس سرویزیه در غلظت های ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر بررسی کردند و نتیجه گرفتند که اثر بازدارندگی از رشد سینام آلدئید از بنزوات سدیم بیشتر اسن و ترکیب سینام آلدئید با یک آمینو اسید نیز اثر بازدارندگی بابر با سینام آلدئید تنها نشان داد ولی بوی تند سینام آلدئید به علت ترکیب با آمینو اسید از بین رفته بود و همچنین نتیجه گرفتند که اثر بازدارندگی سینام آلدئید و همینطور ترکیب سینام و آمینو اسید در مقادیر های پایین pH بهتر است (Wei et al, 2011).

Shen و همکاران در سال ۲۰۱۵ در چین اثر سینام آلدئید را بر روی دیواره سلولی باکتریهای استافیلوک اورئوس و اشرشیا کلی بررسی کردند در این تحقیق حداقل غلظت بازدارندگی سینام آلدئید را در بازه زمانی ۰ تا ۹ ساعت با توالی ۱ ساعت بررسی شد و اثر سینام آلدئید را بر مورفولوژی باکتری، سلامت دیواره سلولی و میزان نفوذپذیری سینام آلدئید را به داخل سلول بررسی کردند و دریافتند که این ماده قادر است در غلظت ۰/۳۱ میلی گرم بر میلی لیتر با آسیب به دیواره سلولی و نفوذ به داخل سلول از رشد باکتریهای مذکور جلوگیری کند (Shen et al, 2015).

اثر pH پایین و سینام آلدئید را بر روی اسپور باکتری آلیکیلوباسیلوس اسیدوترانس را در سال ۲۰۰۹ در ایتالیا بررسی کردند در این کار تحقیقی غلظتهایی ۰-۲۰۰ پی پی ام سینام آلدئید را در pH ۳/۵ تا ۵/۵ در محیط برون تنی به مدت ۳۳ روز مورد آزمایش قرار گرفت در این مطالعه دریافتند که غلظت های ۱۵۰-۲۰۰ ppm و در pH پایین بیشترین اثر جلوگیری از جوانه زدن اسپور باکتری را داشته است (Bevilacqua et al, 2009).

Ye و همکاران در سال ۲۰۱۳ در چین اثر سینرژیستی سینام آلدئید را همراه با کارواکرل بر روی ۱۱ باکتری که باعث بیمارهای منتقله از راه غذا می شوند در محیط برون تنی بررسی شد، در این کار ابتدا

حداقل غلظت بازدارندگی این دو ترکیب بر روی ۱۱ پاتوژن منتقله از غذا بدست آمد که به شرح زیر است:

جدول ۲-۳- مقایسه حداقل غلظت بازدارندگی باکتری های گرم مثبت و منفی (Ye et al, 2013).

باکتری	حداقل غلظت بازدارندگی (mg/mL)		باکتری	حداقل غلظت بازدارندگی (mg/mL)	
	کارواکرل	سینام آلدئید		کارواکرل	سینام آلدئید
E. coli.	۰/۳۱	۰/۳۱	L. garvieae	۰/۱۶	۰/۶۳
S. aureus	۰/۳۱	۰/۳۱	S. sanguinis	۰/۱۶	۰/۶۳
Y. regensburgei	۰/۳۱	۰/۳۱	E. cloacae	۰/۱۶	۰/۶۳
S. intermedius	۰/۳۱	۰/۱۶	A. hydroPH ila	۰/۱۶	۰/۳۱
K. kristinae	۰/۳۱	۰/۳۱	S. enteritidi	۰/۳۱	۰/۳۱
S. haemolyticus	۰/۳۱	۰/۱۶			

سپس حداقل غلظت بازدارنده و کشنده این دو ترکیب با هم بر روی این پاتوژن ها بررسی شد نتایج بدست آمده به شرح جدول زیر می باشد:

جدول ۲-۴- مقایسه حداقل غلظت بازدارنده و کشنده کارواکول و سینام آلدئید برای باکتریهای گرم منفی و مثبت

(Ye et al, 2013).

نوع اثر	حداقل غلظت کشندگی کارواکول / سینام آلدئید	حداقل غلظت بازدارندگی کارواکول / سینام آلدئید	باکتری
سینرژيست	۰/۲۸۱	۰/۰۷۸ - ۰/۰۱۰	E. coli.
سینرژيست	۰/۲۸۱	۰/۰۷۸ - ۰/۰۱۰	S. aureus
سینرژيست	۰/۲۸۱	۰/۰۷۸ - ۰/۰۱۰	Y. regensburgei
سینرژيست	۰/۳۱۳	۰/۰۷۸ - ۰/۰۱۰	S. intermedius
سینرژيست	۰/۱۵۶	۰/۰۳۹ - ۰/۰۱۰	K. kristinae
سینرژيست	۰/۳۱۳	۰/۰۳۹ - ۰/۰۱۰	S. haemolyticus
بدون اثر سینرژيستی	۰/۵۱۶	۰/۰۷۸ - ۰/۱۵۶	L. garvieae
بدون اثر سینرژيستی	۰/۷۵۰	۰/۰۷۸ - ۰/۱۵۶	S. sanguinis
بدون اثر سینرژيستی	۰/۵۶۳	۰/۰۰۹ - ۰/۳۱۳	E. cloacae
بدون اثر سینرژيستی	۱ < ۱/۳۱۰ < ۴	۰/۰۷۸ - ۰/۰۱۰	A. hydroPH ila
سینرژيست	۰/۲۸۱	۰/۰۷۸ - ۰/۰۱۰	S. enteritidi

نتایج این تحقیق نشان داد که این دو ماده در کنار هم اثر به مراتب قویتری بر روی ۷ گونه از ۱۱ گونه باکتری

مورد مطالعه در این طرح نسبت به اثر هر کدام از این دو ترکیب به تنهایی داشتند (Ye et al, 2013).

wang-sheng و همکاران در سال ۲۰۱۲ در چین تاثیر عصاره روغنی دارچین، عصاره نعنای هندی یکبار هر کدام بصورت جداگانه و در مرحله بعدی این دو عصاره با هم ترکیب و حداقل بازدارندگی از رشد آنها بر روی قارچ های کاندیدا آلبیکانسی، کاندیدا ترو پیکالیسی و کاندیدا کروزوی بررسی و اثر این عصاره ها بر مورفولوژی و ساختار سلولی توسط روشهای scanning electronic microscopy (SEM) and transmission electronic microscopy (TEM) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصله به این صورت بود:

جدول ۲-۵- بررسی حداقل غلظت بازدارندگی عصاره نعنای هندی و دارچین بر روی گونه های مختلف مخمر کاندیدا (wang et al, 2012).

عصاره نعنای هندی (Mic)	عصاره دارچین (Mic)	نوع قارچ
۰/۰۳۲ mg/ml	۰/۶۴ mg/ml	کاندیدا آلبیکانس
۰/۰۶۴ mg/ml	۰/۱۲۹ mg/ml	کاندیدا تروپیکالیس
۰/۰۶۴ mg/ml	۰/۱۲۹ mg/ml	کاندیدا کروزی

در مورد ترکیب این دو عصاره اثر ضد قارچی بیشتر و میزان هر دو عصاره کمتر شد و نشان دهنده اثر سینرژیستی این دو ترکیب بر قارچ ها می باشد. مقایسه دیواره سلولی گروه های تیمار شده با گروه کنترل بعد از ۴۸ ساعت بیانگر این بود که مورفولوژی سلول تغییر یافته بود و سوراخ های نامنظم در سطح ایجاد شده بود و بعد از ۷۲ ساعت دیواره سلولی قارچ ها کاملاً آسیب دیده بود و سیتوپلاسم شبیه یک حباب خالی شده بود و محتویات سلولی خارج شده بود (wang et al, 2012).

Tzortzakis و همکاران اثر عصاره دارچین را در غلظت های ۲۵-۵۰-۱۰۰-۵۰۰ ppm بر قارچ های کلتوریوم کوکودس، بوتریس سینرا، کلادوسپیروم هرباریوم، رایزوپس استولونیر و اسپرژیلوس نایجر در محیط برون تنی در سال ۲۰۰۸ در یونان بررسی کردند، در این مطالعه اثر عصاره دارچین بر تولید کلنی توسط این قارچ ها با گروه کنترل مقایسه شد و دریافتند که در تمام غلظت ها میزان کاهش تولید کلنی نسبت به گروه کنترل معنی دار بود و در غلظت ۵۰۰ تولید کلنی در تمام قارچ ها به جزء بوتریس سینرا کاملاً متوقف شده بود، این غلظت بعد از ۱۰ روز برای تمام قارچها به جزء بوتریس سینرا کشنده بود (Tzortzakis et al, 2009).

Xing و همکاران در سال ۲۰۱۰ در چین اثر عصاره روغنی دارچین را بر روی قارچ های رایزوپس نیگریفیکانس، اسپرژیلوس فلاووس و پنی سیلیوم اکسیانوسوم را به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی این ترکیب را به مدت ۳ روز در محیط برون تنی بررسی کردند و دریافتند که حداقل غلظت مهاری عصاره دارچین برای قارچ رایزوپس

۰/۶۴ (v/v) % و برای دو قارچ دیگر ۰/۱۶ (v/v) % بود. در این مطالعه همین ماده به روش درون تنی و در میوه های پرتقال و عناب به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی بر روی قارچهای مذکور انجام شد، عصاره دارچین توانست در غلظت های ۰/۲ % و ۰/۳ % بطور کامل رشد هر سه نوع قارچ را کنترل کند (Xing et al, 2010).

Goni و همکاران در سال ۲۰۰۹ تاثیر عصاره دارچین و نعناع را بر روی ۴ باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسیتوژنز و انتروکوکوس فیکالیس) و ۴ باکتری گرم منفی (اشرشیاکلی، سالمونلا، یرسینیا انتروکولیتیکا و سودوموناس آیروزینوزا) را بصورت جداگانه برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و در مرحله بعدی ترکیبی از این دو عصاره را به نسبت مساوی یک به یک بر روی باکتریهای مذکور بررسی کردند نتایج بدست آمده بیانگر توانایی تقریباً برابر هر دو عصاره برای دو گروه باکتری بود ولی درمورد ترکیب این دو عصاره بایستی خاطر نشان کرد که این ترکیب برای باکتری اشرشیا کلی اثر آنتاگونیستی داشت و غلظت زیادهتری از هر دو ترکیب برای جلوگیری از رشد لازم بود ولی در مقابل باکتریهای یرسینیا انتروکولیتیکا، لیستریا مونوسیتوژنز و باسیلوس سرئوس اثر سینرژیستی داشته و غلظت کمی از هر دو ترکیب نسبت به زمانی که بصورت جداگانه بکار برده شدند برای جلوگیری از رشد نیاز بود (Goni et al, 2009).

Manso و همکاران در سال ۲۰۱۲ در اسپانیا اثر عصاره دارچین را بر روی قارچ آسپرژیلوس فلاووس به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و همچنین تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره دارچین بررسی کردند در این مطالعه تعداد اولیه قارچ از 10^3 تا 10^6 عدد متفاوت بود. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره دارچین در این مطالعه بین ۰/۱-۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود و حداقل غلظت کشندگی دارچین بین ۰/۵-۰/۲ بود که به دلیل تفاوت در تعداد اولیه قارچ آسپرژیلوس فلاووس بود (Manso et al, 2012).

Shan و همکاران در سال ۲۰۰۷ در نیوزلند در مطالعه ی حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی ترکیبات موثره دارچین را بر روی ۵ باکتری باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا آناتوم، اشرشیاکلی و لیستریا مونوسیتوژنز بررسی و دریافتند که حداقل غلظت مهاری برای باسیلوس سرئوس برابر $625 \mu\text{g/ml}$ و برای سایر باکتریها بالاتر از $2500 \mu\text{g/ml}$ بود همچنین نتیجه گرفتند که حداقل غلظت کشندگی باکتری این ترکیبات برای تمام باکتریهای مورد مطالعه بالاتر از $2500 \mu\text{g/ml}$ است (Shan et al, 2007).

فصل سوم

روش انجام آزمایش

۳-۱- تهیه سس مایونز

برای تهیه سس مورد نظر در تاریخ ۱۳۹۴/۹/۲۹ به کارخانه مواد غذایی بیدستان قزوین و واحد تولید سس مایونز این کارخانه مراجعه شد، با توجه به صحبت‌هایی که با مسئول فنی و رییس آزمایشگاه مواد غذایی صورت گرفت در هر مرحله و برای غلظت‌هایی مورد نظر ما ۵۰ کیلوگرم سس وارد میکسر نهایی شده و بعد وارد خط بسته بندی می شد چون حداقل وزنی که میکسرهای این کارخانه قادر به کار بود ۵۰ کیلوگرم بود (حجم واقعی میکسر که در کارخانه مورد استفاده قرار می گرفت ۴۵۰ کیلوگرم بود) در میکسر نهایی و جایی که ماده نگهدارنده بنزوات سدیم نیز توسط کارخانه در همین قسمت اضافه می شد ما نیز در همین مرحله غلظت‌هایی ۱/، ۲۵/، و ۱۵/ درصد همراه با ۲۰۰ PPM بنزوات سدیم را تهیه کردیم در ضمن اینکه یکی از نمونه های سس ما سس تولیدی خود کارخانه با همان مقدار نگهدارنده ی بود که وارد بازار می شد و نهایتاً نمونه سس شاهد که فاقد هر نوع نگهدارنده شیمیایی بود. برای تهیه نمونه سس با غلظت ۱/ درصد طبق این فرمول عمل شد:

$$\begin{array}{ccc} ۱ \text{ kg} & & ۵۰ \text{ gr} \\ \text{.....} & \longrightarrow & \\ ۵۰ \text{ kg} & & \end{array}$$

برای دو غلظت دیگر از سینام آلدئید نیز به همین شیوه عمل شد ولی برای غلظت سینام آلدئید ۱۵/ به همراه ۲۰۰ ppm بنزوات سدیم ما ۱۰ گرم از بنزوات سدیم را همراه با ۷/۵ گرم سینام آلدئید را توسط ترازوی دیجیتالی وزن کرده و به میکسر حاوی ۵۰ کیلوگرم سس مایونز اضافه کردیم.

غلظت ۷۰۰ ppm بنزوات سدیم کارخانه نیز طبق این فرمول محاسبه می شد

$$\begin{array}{ccc} ۴۵۰۰۰ \text{ gr} & & ۷۰۰ \\ \text{.....} & \longrightarrow & \\ ۱۰۰۰۰ \text{ gr} & & \end{array}$$

نمونه ها پس از آماده شدن و خروج از لوله های پر کننده وارد شیشه های ۲۰۰ گرمی شده و درب آنها گذاشته می شد. ما در این کار دقیقاً شرایط تولید سس کارخانه را برای تولید نمونه های مورد نیاز خودمان مد نظر قرار دادیم. در این کارخانه کارگران از لباس کار و کاور کفش یا کفش مخصوص سالن تولید استفاده می کردند در تمام مراحل

تولید سس کارگران کلاه به سر داشتند ولی از دستکش استفاده نمی کردند و وقتی دلیل عدم استفاده از دستکش سوال شد اعلام کردند که تمام کارگران سالن تولید قبل از شروع کار در خط تولید دستهای خود را به دقت می شورند. شیشه های ۲۰۰ گرمی مورد استفاده نیز قبل از ورود به خط تولید در آب جوش شسته شده و از محفظه بخار جهت استریل شدن رد می شدند.

۳-۱-۱- سس مایونز

مایونز از جمله قدیمی ترین سس ها می باشد که به طور وسیعی در کل جهان مصرف می شود مطابق استاندارد ایران مایونز نوعی امولسیون روغن در آب می باشد که حاصل امولسیون شدن روغن های خوراکی گیاهی (حداقل ۶۶ درصد) در یک فاز مایع حاوی سرکه بوده و زرده تخم مرغ به عنوان امولسیون کننده آن می باشد. رنگ آن کرم تا زرد کم رنگ است و دارای بو مزه ی ملایمی است pH آن بین ۳/۵ تا ۴ است و نباید بیش از ۱/۴ باشد و طبق استاندارد صنعتی ایران، به شماره ۲۴۵۴ است (یلمه و همکاران، ۱۳۹۳).

علاوه بر این در فرمولاسیون مایونز ترکیبات دیگری مثل نمک، شکر، خردل، ترکیبات اسیدی کننده، پایدار کننده، ادویه و نگهدارنده اضافه می شود (Liu et al, 2007 & Xiong et al, 2002). فیض آبادی و همکاران، ۱۳۹۲). با توجه به عدم وجود فرایند حرارتی طی تولید این فرآورده، نیاز به نگهدارنده های شیمیایی مثل بنزوئیک اسید و نمک های آن، جهت ممانعت از رشد میکروارگانیسمها طی نگهداری سس وجود دارد (Hwang et al, 2007).

۳-۱-۲- تهیه سوسپانسیون میکروبی

در این تحقیق میکروارگانیسم های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی بصورت لیوفیلیزه از آزمایشگاه پارس حیان گرفته شد، آمپول های باکتری ابتدا در شرایط سترون باز و به محیط کشت مایع نوترینت براث انتقال و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد و غلظت معادل نیم مک

فارلند) ($10^8 \times 1/5$) از آنها تهیه شد بدین صورت که برای تهیه این سوسپانسیون با آنس در چند مرحله کمی سوش میکروبی از کلنی های ایجاد شده بر داشته و در لوله حاوی ۵ سی سی سرم فیزیولوژی وارد کردیم و این عمل را آنقدر تکرار می کنیم که کدورت این محلول با کدورت لوله معادل نیم مک فارلند برابر شود این روش برای هر دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی طبق استاندارد ملی ۲۹۶۵ ایران انجام شد (Heo et al, 2010).

بعد از تهیه سس مایونز از کارخانه سس بیدستان، به دو قسمت مساوی تقسیم شد. به یک قسمت از سس ماده نگهدارنده سدیم بنزوات اضافه می شود. لازم به یادآوری است که در حال حاضر سدیم بنزوات به عنوان ماده نگهدارنده توسط کارخانه های سازنده سس به آن اضافه می شود. از این نمونه به عنوان کنترل استفاده می شود و تمام آزمون های میکربی روی این نمونه های سس مایونز نیز به موازات بررسی سینام آلدئید انجام شد. سس بدون ماده نگهدارنده به سه گروه تقسیم شد و به آنها از ماده سینام آلدئید در غلظت های ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۱۵ درصد سینام آلدئید همراه با ۲۰۰ ppm بنزوات سدیم اضافه شد و یک نمونه شاهد در نظر گرفته شد که هیچ نوع ماده ای به آن اضافه نشد. اضافه کردن سینام آلدئید به سس بعد از اتمام تولید سس و قبل از ورود به مخلوط کن نهایی جهت تخلیه به شیشه های ۲۰۰ گرمی جهت بسته بندی بود چون سینام آلدئید بصورت مایع بود مقدار مورد نیاز توسط ترازوی دیجیتال وزن شد و بصورت مستقیم داخل مخلوط کن حاوی سس مایونز ریخته می شد و همراه با سس مایونز توسط دستگاه میکسر بطور یکنواخت بهم زده شد تا سس از نظر دریافت سینام آلدئید کاملاً یکنواخت شود.

در مرحله بعد از لوله حاوی ۵ سی سی سرم فیزیولوژی و سوش استافیلوکوکوس اورئوس ۱ سی سی با پیت برداشته و در شیشه خالی استریل حاوی ۴۰ سی سی پیتون واتر استریل ۹ گرم سس ۱/ سینام آلدئید اضافه کردیم و به هم زدیم تا یکنواخت شد این کار را برای سایر نمونه های سس آماده شده اضافه کردیم در پایان این مرحله ما ۵ شیشه حاوی ۴۰ سی سی پیتون واتر و ۹ گرم سس مایونز در غلظت

هابی مد نظر داشتیم که با ۱ سی سی سوش استاف نیم مک فارلند تلقیح شده بود، همچنین ۵ شیشه حاوی باکتری اشرشیاکلی داشتیم که دقیقا روش آماده سازی آن مشابه استافیلوک اورئوس بود بعد از این مرحله از هر یک نمونه های تلقیح شده سس به میزان ۱ سی سی برداشتیم (غلظت ۱/۱). نمونه سس) و در پلیت ریخته و محیط کشت خاص آن باکتری را اضافه کردیم، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگه داشته شد و سپس میزان رشد و ایجاد کلنی بررسی شد این عمل برای ۵ نمونه سس حاوی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و ۵ نمونه سس حاوی باکتری اشرشیاکلی در روز صفر انجام شد. البته بایستی در نظر داشت ما چون کار نگهداری نمونه ها را در دو دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتیگراد داشتیم از هر غلظت دو نمونه تهیه کردیم و به عبارتی ۱۰ شیشه نمونه حاوی باکتری استافیلوکوکوس داشتیم و ۱۰ شیشه نمونه حاوی باکتری اشرشیاکلی که از هر سوش ۵ شیشه را در دمای ۵ درجه در یخچال نگهداری کردیم و ۵ شیشه دیگر را در انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگه داشتیم و آزمایشات در روزهای ۲، ۷، ۱۰ و ۳۰ روز نیز تکرار شد.

۳-۲- محیط کشت برای شناسایی و شمارش استافیلوکوکوس اورئوس

۳-۲-۱- محیط برد پارکر (BR)

این محیط کشت ، یک محیط کشت افتراقی برای جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس است. این محیط حاوی تریپتون و عصاره گوشت به عنوان مواد مغذی به همراه گلايسين و سدیم پیروات است. مواد انتخابی این محیط شامل لیتیم کلراید و تلوریت پتاسیم است که از رشد اغلب ارگانسیم های گرم منفی ممانعت می کند چون استافیلوکوکوس اورئوس گرم مثبت است.

زرده تخم مرغ (تجزیه لیستین) برای شناسایی آنزیم لیستناز تولید شده توسط تعداد زیادی از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس اضافه میشود. مقدار گرم قید شده در دستورالعمل روی قوطی را وزن کرده، مقدار ۹۵۰ سی سی آب مقطر که قبلاً آنرا گرم کرده بودیم برداشته و نصف آن را در ارلن ریختیم سپس پودر محیط کشت را در ارلن ریخته و مابقی پودر را هم اضافه می کنیم و خوب مخلوط کرده روی شعله ملایم قرار داده تا خوب حل شود. در ارلن را با پنبه بسته و روی آن را با فویل آلومینیومی پوشانده در اتوکلاو 121°C درجه سانتیگراد و فشار 15^{psi} به مدت ۱۵ دقیقه قرار دادیم بعد از اتمام اتوکلاو وقتی دمای محیط کشت به 70°C درجه سانتیگراد رسید در کنار شعله 50°C سی سوسپانسیون زرده تخم مرغ و تلوریت پتاسیم را به آن اضافه می کنند این محیط در یخچال تا ۳-۴ هفته قابل نگهداری است.

چون استافیلوکوکوس اورئوس قادر به احیای نمک تلوریت است پس کلنی هایی سیاه و خاکستری رنگ دیده می شود و چون آنزیم لیستناز دارد بنابراین اطراف هر کلنی هاله رسوبی و کدر وجود دارد بنابراین مشخصه اصلی در برد پارکر کلنی سیاه رنگ با هاله رسوبی کدر چون قادر به تجزیه تلوریت و لیستین تخم مرغ است نتیجه حاصل شده در پلیت ها تولید کلنی های سیاه و هاله کدر و رسوبی اطراف این کلنی ها بود.

۳-۲-۲- محیط کشت برای شمارش اشرشیاکلی

محیط کشت مکانکی آگار (M.C.A)

این محیط کشت برای شمارش و شناسایی آنتروباکتریاسه ها و همچنین در شمارش و شناسایی کلی فرمها کاربرد دارد مقدار گرم قید شده در دستورالعمل روی قوطی محیط کشت وزن کردیم سپس ۱۰۰۰ سی سی آب مقطر داغ را با مزور برداشته و نصف آن را در یک ارلن ریختیم و پودر محیط کشت فوق را در ارلن ریخته و مابقی آب مقطر را نیز در ارلن ریخته و خوب مخلوط کردیم ارلن را روی شعله ملایم قرار دادیم تا محیط کشت حل و شفاف شود. در مرحله بعد این محیط تهیه شده را مثل محیط بردپارکر اتوکلاو می کنیم، این محیط در یخچال تا ۲ ماه قابل نگهداری است.

۳-۳- آزمایشات شیمیایی انجام شده روی سس مایونز

آزمایشات شیمیایی صورت گرفته روی سس مایونز طبق استاندارد ملی ۲۴۵۴ بود و ما در روز صفر و روزهای ۲، ۳، ۷، ۱۰ و ۳۰ روز این آزمایشات را برای دو نمونه مشابه هم تکرار کردیم. آزمایشات صورت گرفته شامل pH، اسیدیته، رطوبت و میزان نمک بود.

۳-۳-۱- اندازه گیری pH

ابتدا ۵ گرم از نمونه سس را با ترازوی دیجیتال وزن کرده سپس ۹۵ سی سی آب مقطر به آن اضافه کردیم، داخل بشر یک آهن ربا قرار دادیم و روی دستگاه همزن قرار دادیم تا کاملاً همگن و یکنواخت شود سپس با استفاده از دستگاه pH متر مدل METROHM و قرار دادن الکترود دستگاه در بشر PH نمونه را به دست آوردیم.

۳-۳-۲- آزمایش اسیدیته

ابتدا ۱۵ گرم از نمونه سس را با ترازوی دیجیتال وزن کرده سپس ۲۰۰ سی سی آب مقطر به آن اضافه کردیم، داخل بشر یک آهن ربا قرار دادیم و روی دستگاه همزن قرار دادیم تا کاملاً همگن و یکنواخت شود سپس چند قطره معرف

فتل فتالین به نمونه اضافه می کنیم و با محلول ۱/۰ نرمال هیدروکسید سدیم تیترو می کنیم و این تیتراسیون را تا زمانی که رنگ نمونه به صورتی تغییر یابد انجام می دهیم برای تشخیص بهتر رنگ صورتی زیر بشر یک کاغذ سفید قرار دادیم، نهایتاً حجم سود مصرفی را یادداشت کرده و در فرمول قرار داده و میزان اسیدیته نمونه محاسبه می شود

$$\text{اسیدیته (بر حسب اسید استیک)} = \frac{0/6 \times \text{مقدار سود مصرفی}}{\text{وزن نمونه}}$$

۳-۳-۳- تعیین رطوبت سس

برای کار پلیت را در آون در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت قرار داده و بعد از خارج کردن از آون به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در داخل دسیکاتور قرار می دهیم تا وزن پلیت ثابت گردد پس از سرد شدن پلیت در داخل دسیکاتور، آن را وزن کرده و یادداشت می کنیم در مرحله بعد ۳ گرم از نمونه سس توزین شده و داخل پلیت می ریزیم و آن را داخل آون ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱/۵ ساعت قرار می دهیم بعد از اتمام این مدت پلیت را درآورده و داخل دسیکاتور مثل مرحله قبل می گذاریم تا وزن آن ثابت گردد و این وزن را نیز یادداشت می کنیم

رطوبت طبق این فرمول محاسبه می شود:

$$\text{درصد رطوبت} = 100 \times \frac{M_2 - M_1}{G}$$

$$= \text{وزن نمونه سس همراه با پلیت } M_2$$

$$= \text{وزن پلیت خالی } M_1$$

$$= \text{وزن نمونه سس } G$$

۳-۳-۴- تعیین میزان نمک

برای تعیین میزان نمک نمونه از روش موهر استفاده می شود به این ترتیب که ۳ گرم از نمونه را با ترازوی دیجیتالی وزن کرده و در بالن با آب مقطر به حجم ۱۰۰ سی سی می رسانیم

در مرحله بعد ۵ گرم از معرف کرومات پتاسیم (K_2CrO_4) را به حجم ۱۰۰ سی سی می رسانیم و همگن می کنیم (محلول زرد رنگ)، سپس ۵/۱ سی سی از محلول کرومات پتاسیم را به بالن حاوی نمونه سس اضافه می کنیم تا رنگ آن زرد شود. در مرحله بعد ۱۰ سی سی از نمونه توسط پیپت حبابدار برداشته شده و در یک بشر میریزیم و نهایتاً با نیترات نقره ۱/۱ نرمال تیترو می کنیم تا ظهور رنگ پایدار قرمز آجری که نشان دهنده پایان تیتراسیون است حجم نیترات نقره مصرفی را در جدول زیر قرار داده و میزان نمک بدست می آید.

$$\text{میزان نمک سس} = \frac{0.585 \times \text{مقدار نیترات نقره مصرفی}}{\text{وزن نمونه}}$$

۳-۳-۵- آزمون رنگ

برای بررسی دقیق تر اثر غلظت هایی مختلف سینام آلدئید بر شاخص هایی رنگ سس مایونز تولیدی از دستگاه اسپکتوفتومتر هانتر کالر فلکس مدل ST1002 مطابق با روش ارائه شده توسط کمپانی هانتر لب استفاده شد..

۳-۳-۶- آزمون ارزیابی حسی

جهت انجام آزمون ارزیابی حسی نمونه های سس مایونز تولیدی از نظر ویژگیهای حسی مانند طعم، بو، رنگ، قوام، بافت و در نهایت پذیرش کلی نمونه ها بر اساس پرسشنامه مربوطه و به روش سیستم ارزیابی امتیاز دهی توسط ۱۰ نفر ارزیاب حسی نظرسنجی انجام شد اکثر آنها از کارشناسان صنایع غذایی موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران بودند که آزمون مقدماتی آستانه چشایی تشخیص طعم های اصلی را با موفقیت گذرانده بودند (Milani et al.2010).

میانگین نتایج حاصل برای ارزیابی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت

ردیف	درصد سینام	رنگ	بو	طعم	شکل ظاهری و بافت	قوام(سفتی)	پذیرش کلی

خیلی خوب= بسیار رضایت بخش=۴ امتیاز

خوب= رضایت بخش= ۳ امتیاز

متوسط= قابل قبول= ۲ امتیاز

ضعیف= غیر قابل قبول= ۱ امتیاز

خیلی ضعیف= غیر قابل مصرف= ۰ امتیاز

فصل چهارم

یافته ها

۴-۱- نتایج آزمایشات میکروبی

نتایج آزمایشات میکروبی براساس تلقیح مقدار معین از نمونه مورد نظر به محیط های کشت مایع و جامد و گرمخانه گذاری در زمان و دمای مناسب عبارتست از:

جدول ۴-۱-۱: نتایج مربوط به سس فاقد نگهدارنده

ردیف	نتایج تلقیح باکتری E. Coli			نتایج تلقیح باکتری StapH.aureus			کنترل
	دمای اتاق	۴ درجه	زمان شمارش بعد تلقیح	دمای اتاق	۴ درجه	زمان شمارش بعد تلقیح	
۱	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۰	بیش از ۳۰۰ کلنی
۲	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۲	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۲	بیش از ۳۰۰ کلنی
۳	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۷	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۷	بیش از ۳۰۰ کلنی
۴	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۱۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۱۰	بیش از ۳۰۰ کلنی
۵	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۳۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۳۰	بیش از ۳۰۰ کلنی

در سس بدون نگهدارنده، رشد اشرشیاکلی و استافیکوکوس اورئوس بدون تغییری در طول ۳۰ روز، در دمای اتاق و دمای ۴ درجه سانتی گراد همچنان ادامه یافته است در صنایع غذایی پلیت هایی که بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی داشته باشند ارزش شمارش و گزارش دهی دارند.

جدول ۴-۱-۲: نتایج مربوط به بنزوات

ردیف	نتایج تلقیح باکتری E.Coli			نتایج تلقیح باکتری StapH.aureus			کنترل
	دمای اتاق	۴ درجه	زمان شمارش بعد تلقیح	دمای اتاق	۴ درجه	زمان شمارش بعد تلقیح	
۱	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۰	بیش از ۳۰۰ کلنی
۲	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۲	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۲	بیش از ۳۰۰ کلنی
۳	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۷	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۷	بیش از ۳۰۰ کلنی
۴	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۱۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۱۰	بیش از ۳۰۰ کلنی
۵	بیش از ۳۰۰ کلنی	منفی	روز ۳۰	منفی	منفی	روز ۳۰	بیش از ۳۰۰ کلنی

بنزوات ppm ۷۰۰ در روز ۳۰، موفق به مهار رشد استاف اورئوس در دو دمای اتاق و ۴ درجه سانتی گراد و

مهار رشد اشرشیاکلی در دمای ۴ درجه سانتی گراد شده است

جدول ۴-۱-۳: نتایج مربوط به سینام آلدئید ۰/۱ درصد

ردیف	نتایج تلقیح باکتری E.Coli			نتایج تلقیح باکتری Staph.aureus			کنترل
	دمای اتاق	۴ درجه	زمان شمارش بعد تلقیح	دمای اتاق	۴ درجه	زمان شمارش بعد تلقیح	
۱	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۰	بیش از ۳۰۰ کلنی
۲	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۲	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۲	بیش از ۳۰۰ کلنی
۳	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۷	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۷	بیش از ۳۰۰ کلنی
۴	منفی	منفی	روز ۱۰	۲۳۲۰۰ (۵۸×۱۰×۴۰)	۱۷۶۰۰ (۴۰×۱۰×۴۴)	روز ۱۰	بیش از ۳۰۰ کلنی
۵	منفی	منفی	روز ۳۰	منفی	منفی	روز ۳۰	بیش از ۳۰۰ کلنی

نتایج جدول نشان می دهد که سینام آلدئید ۰/۱ درصد در روز ۱۰ در دو دمای اتاق و ۴ درجه سانتی گراد، تلقیح رشد

اشرشیاکلی را در محیط کشت کاملاً متوقف کرده است و این در حالی است که رشد استاف اورئوس در روز ۳۰ مهار

شده است. البته نتایج نشان می دهد که سینام آلدئید ۰/۱ درصد رشد اشرشیاکلی را در دو دمای یاد شده از روز هفتم و

رشد استاف اورئوس را در روز ۱۰ کاهش داده است.

جدول ۴-۱-۴: نتایج مربوط به سینام آلدئید ۰/۰۲۵ درصد

ردیف	نتایج تلقیح باکتری E.Coli			نتایج تلقیح باکتری StapH.aureus			کنترل
	دمای اتاق	۴ درجه	زمان شمارش بعد تلقیح	دمای اتاق	۴ درجه	زمان شمارش بعد تلقیح	
۱	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۰	بیش از ۳۰۰ کلنی
۲	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۲	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۲	بیش از ۳۰۰ کلنی
۳	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۷	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۷	بیش از ۳۰۰ کلنی
۴	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۱۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۱۰	بیش از ۳۰۰ کلنی
۵	بیش از ۳۰۰ کلنی	منفی	روز ۳۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	منفی	روز ۳۰	بیش از ۳۰۰ کلنی

سینام آلدئید ۰/۰۲۵ درصد در دمای ۴ درجه سانتی گراد، در روز ۳۰، موفق به مهار رشد اشرشیاکلی و استاف اورئوس شده است

جدول ۵-۱-۴: نتایج مربوط به مخلوط سینام آلدئید و بنزوات سدیم

ردیف	نتایج تلقیح باکتری E.Coli			نتایج تلقیح باکتری StapH.aureus			کنترل
	دمای اتاق	۴ درجه	زمان شمارش بعد تلقیح	دمای اتاق	۴ درجه	زمان شمارش بعد تلقیح	
۱	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۰	بیش از ۳۰۰ کلنی
۲	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۲	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۲	بیش از ۳۰۰ کلنی
۳	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۷	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۷	بیش از ۳۰۰ کلنی
۴	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۱۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۱۰	بیش از ۳۰۰ کلنی
۵	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۳۰	بیش از ۳۰۰ کلنی	بیش از ۳۰۰ کلنی	روز ۳۰	بیش از ۳۰۰ کلنی

از نتایج جدول ۵-۱-۴ به نظر می رسد که افزودن توام بنزوات ppm ۲۰۰ و سینام آلدئید ۰/۱۵ درصد تا روز ۳۰ مطالعه

نتوانسته است که سبب مهار رشد اشرشیاکلی و استاف اورئوس در دو دمای اتاق و ۴ درجه سانتی گراد شود.

۴-۲- نتایج آزمایشهای شیمیایی:**جدول ۴-۲-۱- میانگین اسیدیته در نمونه های سس مایونز در طول یک ماه نگهداری**

بدون نگهدارنده	بنزوات	سینام آلدئید	بنزوات + سینام آلدئید
۷۰۰ ppm	٪۰/۱	٪۰/۰۲۵	ppm ۲۰۰+۰/۰۱۵
۰/۶۶±۰/۰۰۲	۰/۶۵ ± ۰/۰۰۳	۰/۷۳±۰/۰۰۶ ***	۰/۷۰ ± ۰/۰۰۴ ***

آزمون Tukey HSD، n=۶، $P<۰/۰۰۱$ ، $P<۰/۰۱$ ، **

در بررسی میزان اسیدیته گروه های مختلف نتایج بدست آمده نشان داد که از نظر آماری میان گروه بدون نگهدارنده با بنزوات هیچ گونه اختلاف معنی داری بدست نیامد. اما این اختلاف در گروه بدون نگهدارنده با سایر گروه ها معنی دار بود.

جدول ۴-۲-۲- میانگین نمک موجود در نمونه های سس مایونز در طول یک ماه نگهداری

بدون نگهدارنده	بنزوات	سینام آلدئید	بنزوات + سینام آلدئید
۷۰۰ ppm	٪۰/۱	٪۰/۰۲۵	ppm ۲۰۰+۰/۰۱۵
۲/۲±۰/۰۲	۲/۵ ± ۰/۰۳ ***	۲/۴۸±۰/۰۳ ***	۰/۲۸ ± ۰/۰۳

آزمون Tukey HSD، n=۶، $P<۰/۰۰۱$ ، $P<۰/۰۱$ ، **

در بررسی میزان نمک گروه های مختلف نتایج بدست آمده نشان داد که از نظر آماری میان گروه بدون نگهدارنده و سینام آلدئید ۰/۰۲۵ درصد اختلاف معنی داری مشاهده نشد. اما این اختلاف در گروه بدون نگهدارنده با سایر گروه ها معنی دار بود.

جدول ۴-۲-۳. میانگین رطوبت در نمونه های سس مایونز در طول یک ماه نگهداری

بدون نگهدارنده	بنزوات	سینام آلدئید	بنزوات + سینام آلدئید
	۷۰۰ ppm	%/۰/۱	%/۰/۰۲۵
۴۱/۵۰±۰/۲۲	۴۱/۶۷ ± ۰/۳۳	۴۱±۰/۴۴	۳۹/۶۷ ± ۰/۲۱ *
			۴۱/۱۷ ± ۰/۱۶

آزمون Tukey HSD، n= ۶، $P < ۰/۰۵$ *

در بررسی میزان رطوبت گروه های مختلف نتایج بدست آمده نشان داد که از نظر آماری تنها میان گروه بدون نگهدارنده و سینام آلدئید %/۰/۲۵ درصد اختلاف معنی داری مشاهده شد. اما این اختلاف در گروه بدون نگهدارنده با سایر گروه ها معنی دار نبود.

جدول ۴-۲-۴. میانگین pH در نمونه های سس مایونز در طول یک ماه نگهداری

بدون نگهدارنده	بنزوات	سینام آلدئید	بنزوات + سینام آلدئید
	۷۰۰ ppm	%/۰/۱	%/۰/۰۲۵
۳/۵۱±۰/۰۰۴	۳/۵ ± ۰/۰۰۶	۳/۴۱±۰/۰۰۶***	۳/۴۵ ± ۰/۰۰۹***
			۳/۵۱ ± ۰/۰۰۴

آزمون Tukey HSD، n=۶

در بررسی میزان pH گروه های مختلف نتایج بدست آمده نشان داد که از نظر آماری میان گروه بدون نگهدارنده و بنزوات و بنزوات + سینام آلدئید اختلاف معنی داری مشاهده نشد. اما این اختلاف در گروه بدون نگهدارنده با سایر گروه ها (سینام آلدئید %/۰/۱ و %/۰/۰۲۵) معنی دار بود.

جدول ۴-۲-۵. اندازه گیری پارامترهای هانتر کالر نمونه های سس مایونز در طول یک ماه نگهداری

گروه ها	L	a	b
بدون نگهدارنده	$36/82 \pm 3/31$	$2/25 \pm 3/69$	$11/60 \pm 1/23$
بنزوات ppm ۷۰۰	$37/36 \pm 7/79$	$13/39 \pm 12/42$	$-6/17 \pm 13/54$
سینام آلدئید ۰/۱٪	$38/48 \pm 6/35$	$-4/33 \pm 3/22$	$11/74 \pm 1/84$
سینام آلدئید ۰/۰۲۵٪	$38/11 \pm 1/5$	$11/88 \pm 1/69$	$1/23 \pm 0/25$
بنزوات ۲۰۰ + سینام آلدئید ۰/۰۱۵	$29/53 \pm 4/45$	$-10/74 \pm 19/95$	$4/74 \pm 4/03$

L: روشنی، a: قرمزی و سبزی، b: زردی و آبی، Tukey- Kramer، $n=2$ ، $P>0/05$

از نتایج جدول ۵ چنین به نظر می رسد که از نظر میزان روشنی، افزودن سینام آلدئید در غلظت های مختلف هیچگونه اختلاف معنی داری را در مقایسه با سس بدون نگهدارنده، بوجود نیاورده است. افزودن بنزوات سبب کاهش در میزان روشنی سس شده است که البته این اختلاف معنی دار نیست. هرچند که به نظر می رسد که افزودن توام بنزوات و سینام آلدئید از میزان روشنی سس در مقایسه با سس بدون نگهدارنده کاسته است.

از نظر پارامتر a، نتایج بدست آمده نشان می دهد که میزان تغییر رنگ در میان گروه ها از پراکندگی بالایی برخوردار است. به طوری که افزودن سینام آلدئید ۰/۱٪ از میزان قرمزی رنگ سس کاسته است و در حضور توام بنزوات و سینام آلدئید از این کاهش رنگ کاسته شده است

از نظر پارامتر b، نتایج نشان می دهد که تغییرات در میزان زردی سس مایونز پس از افزودن سینام آلدئید ۰/۱٪، نزدیک به زردی سس بدون نگهدارنده است. از نتایج به نظر می رسد که افزودن بنزوات از میزان زردی رنگ سس کاسته است. تغییرات در پارامتر b در گروه های مختلف از نظر آماری معنی دار نیست.

جدول ۴-۲-۶. مقایسه نتایج حاصل از آزمون ارزیابی حسی

ردیف	درصد سینام	رنگ	بو	طعم	شکل ظاهری و بافت	قوام (سفتی)	پذیرش کلی
۱	۰/۱	۳/۸±۰/۱۳	۲/۹±۰/۲۳***	۲/۲±۰/۲***	۳/۸±۰/۱۳	۳/۹±۰/۱	۲/۶±۰/۲۶
۲	۰/۰۲۵	۳/۸±۰/۱۳	۳/۵±۰/۱۶	۳/۲±۰/۱۳**	۳/۷±۰/۱۵	۳/۹±۰/۱	۳/۲±۰/۱
۳	۰/۰۱۵	۳/۸±۰/۱۳	۳/۸±۰/۱۳	۳/۷±۰/۱۵	۴±۰	۳/۹±۰/۱	۴±۰
۴	۰	۳/۵±۰/۳۹	۳/۹±۰/۰۲	۳/۹±۰/۰۲	۳/۹±۰/۰۲	۳/۹±۰/۰۲	۳/۹±۰/۰۲

آزمون Tukey HSD، n=۱۰، ***P<۰/۰۰۱، **P<۰/۰۱

جدول نتایج آزمون ارزیابی حسی را در میان گروه های مختلف سینام آلدئید در مقایسه با گروه کنترل نشان می دهد.

نتایج نشان می دهد که میان گروه های مختلف سینام آلدئید از نظر رنگ، شکل و قوام هیچ اختلاف معنی داری

مشاهده نمی شود و افزودن سینام آلدئید روی این پارامترها تاثیر نامطلوب نداشته است. از نظر بو به نظر می رسد که

اختلاف معنی داری میان گروه سینام آلدئید ۰/۱ درصد با گروه کنترل وجود دارد و بوی ناشی از افزودن سینام آلدئید در

بالاترین غلظت به سس توسط ارزیاب کننده های حسی مطلوب تشخیص داده نشده است. همچنین از نظر طعم

اختلاف معنی داری در گروه های سینام آلدئید ۰/۱ و ۰/۰۲۵ درصد با گروه کنترل مشاهده گردید که نشاندهنده این

است که سینام آلدئید باعث ایجاد تغییراتی در طعم سس مایونز نسبت به گروه کنترل شده است.

فصل پنجم

بحث، نتیجه گیری

و پیشنهادات

۵-۱- بحث

در مطالعه انجام شده، سینام آلدئید ۰/۱ درصد در روز ۱۰ در دو دمای اتاق و ۴ درجه سانتی گراد، تلقیح رشد اشرشیاکلی را در محیط کشت کاملاً متوقف کرده است و این در حالی است که رشد استاف اورئوس در روز ۳۰ مهار شده است. این در حالی است که بنزوات ppm ۷۰۰ در روز ۳۰، موفق به مهار رشد استاف اورئوس در دو دمای اتاق و ۴ درجه سانتی گراد و مهار رشد اشرشیاکلی در دمای ۴ درجه سانتی گراد شده است. افزودن بنزوات و سینام آلدئید در غلظت های پایین نتوانسته است که همپوشانی اثرات ضد باکتریایی یکدیگر را داشته باشد.

در مورد سینام آلدئید به نظر می رسد که سینام آلدئید در غلظت ۰/۱ درصد اثرات ضد باکتریایی خیلی خوبی در برابر اشرشیاکلی و استاف اورئوس نشان داده است. البته با توجه به نتایج اثرات ضد باکتری سینام آلدئید در برابر باکتری های گرم منفی زودتر از گرم مثبت ظاهر شده است.

افزایش در میزان اسیدیته، در گروه های سس محتوی سینام آلدئید مشاهده گردید. pH سس های محتوی سینام آلدئید های در مقایسه با سس بدون نگهدارنده به صورت معنی داری کاهش یافت.

از نظر میزان روشنی در رنگ سس، افزودن سینام آلدئید در غلظت های مختلف هیچگونه اختلاف معنی داری را در مقایسه با سس بدون نگهدارنده، بوجود نیاورده است. تغییرات در میزان رنگ سس مایونز پس از افزودن سینام آلدئید ۰/۱ درصد، نزدیک به زردی سس بدون نگهدارنده است.

مشابه نتایج مطالعه ما، Jo و همکاران تاثیر سینام آلدئید را بر روی باکتریهای سالمونلا تیفی موریوم، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی در آب هندوانه به مدت ۳۰ روز مورد بررسی قرار دادند. سینام آلدئید، در غلظت هایی بالای ۰/۸ درصد از رشد هر سه نوع باکتری ممانعت می کند و هر چقدر غلظت این ماده بیشتر شود اثر بازدارندگی بیشتر شده است (Jo et al, 2015).

همچنین در مطالعه دیگر توسط Amalaradjo، در گوشت تحت تیمار با سینام آلدئید در غلظت ۰/۳ و دمای پخت ۶۵ درجه سانتیگراد هیچ نوع باکتری اشرشیاکلی مشاهده نشد، در این گوشت آغشته به سینام آلدئید، پایداری رنگ گوشت بهتر بوده و شاخص اکسید شدن چربیها نسبت به گروه کنترل بطور معنی داری کاهش یافته بود (Amalaradjou et al, 2010).

مطالعات انجام شده Makwana و همکاران در سال ۲۰۱۴ در امریکا اثر سینام آلدئید را در بسته بندیهای مواد غذایی بر روی باکتری های اشرشیا کلی و باسیلوس سرئوس را در غلظت های مختلف به مدت ۶۰ ساعت بررسی کردند و دریافتند که سینام آلدئید توانایی کاهش تعداد باسیلوس سرئوس $\log 6/2$ به حد غیر قابل تشخیص در مدت زمان ۴ ساعت و در بالاترین غلظت یعنی ۲۴۰ میکروگرم دارد و در مورد اشرشیا کلی بعد از ۴۸ ساعت و در ماکزیمم غلظت $\log 3/56$ از تعداد باکتری ها را کاهش داد (Makwana et al, 2014).

Shen و همکاران در سال ۲۰۱۵ در چین اثر سینام آلدئید را بر روی دیواره سلولی باکتریهای استافیلوک اورئوس و اشرشیا کلی در سوسپانسیون محیط کشت، بررسی کردند در این تحقیق حداقل غلظت بازدارندگی سینام آلدئید را در بازه زمانی ۰ تا ۹ ساعت با توالی ۱ ساعت بررسی شد و اثر سینام آلدئید را بر مورفولوژی باکتری، سلامت دیواره سلولی و میزان نفوذپذیری سینام آلدئید را به داخل سلول بررسی کردند و دریافتند که این ماده قادر است در غلظت ۰/۳۱ میلی گرم بر میلی لیتر با آسیب به دیواره سلولی و نفوذ به داخل سلول از رشد باکتری های مذکور جلوگیری کند (Shen et al, 2015).

Goni و همکاران در سال ۲۰۰۹ تاثیر عصاره دارچین و نعناع را بر روی ۴ باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسیتوژنز و انتروکوکوس فیکالیس) و ۴ باکتری گرم منفی (اشرشیا کلی، سالمونلا، یرسینیا انتروکولیتیکا و سودوموناس آیروژینوزا) را بصورت جداگانه برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و در مرحله بعدی ترکیبی از این دو عصاره را به نسبت مساوی یک به یک بر روی باکتریهای مذکور بررسی کردند نتایج بدست آمده بیانگر توانایی تقریباً برابر هر دو عصاره برای دو گروه باکتری بود ولی درمورد ترکیب این دو عصاره بایستی خاطر نشان کرد که این ترکیب برای باکتری اشرشیا کلی اثر آنتاگونیستی داشت و غلظت زیادتری از هر دو ترکیب برای جلوگیری از رشد لازم بود ولی در مقابل باکتریهای یرسینیا انتروکولیتیکا، لیستریا مونوسیتوژنز و باسیلوس سرئوس اثر سینرژیستی داشته و غلظت کمی از هر دو ترکیب نسبت به زمانی که بصورت جداگانه بکار برده شدند برای جلوگیری از رشد نیاز بود (Goni et al, 2009).

آسیب به دیواره سلولی باکتریها و خروج ترکیبات حیاتی از سلول مانند یون، اسیدهای نوکلئیک، ATP و آمینو اسیدها باعث مرگ باکتری می شود (Shen et al, 2015 & Shan et al, 2007).

در مطالعه دیگری نشان داده شده است که سینام آلدئید بر علیه باکتریهای گرم مثبت موثرتر از گرم منفی است شاید به خاطر تفاوت اساسی در لایه خارجی دیواره باکتریهای گرم منفی باشد که در این گروه از باکتریها در لایه بیرونی فضای پری پلاسمیک واحدی وجود دارد که در گرم مثبت ها این فضا وجود ندارد و شاید به خاطر سطح هیدروفیلیک لایه خارجی غشاء است که سرشار از ملکول های لیپو پلی ساکارییدی است، وجود این لایه به عنوان یک سد در مقابل نفوذ آنتی بیوتیک ها عمل می کند و قادرند آنزیم ها را در فضای پری پلاسمیک بشکنند. در گرم مثبت ها لایه خارجی ممبران و دیواره سلولی ندارند پس آنتی بیوتیک ها به راحتی دیواره سلولی و دیواره سیتوپلاسمی را تخریب و سیتوپلاسم خارج شده و سلول از بین می رود (Makwana et al, 2014 & Wei et al, 2011)

سینام آلدئید اثرات برگشت ناپذیر و زیانباری بر ساختار سلولی از قبیل کاهش محتوای سیتوپلاسمی، کاهش استحکام و پایداری دیواره سلولی، تخریب دیواره پلاسم، تخریب میتوکندری و تاخوردگی سلول رخ می دهد. اینها شاید نتیجه دخالت سینام آلدئید بر روی واکنش های آنزیمی ساخت دیواره سلولی باشد که باعث تغییر ساختار سلولی و حتی عملکرد سلول می شود که نهایتاً می تواند مانع رشد و حتی مرگ سلول شود (زمانی زاده و همکاران، ۱۳۹۱ Xing et al, 2014).

این تغییرات در ارتباط با توانایی هیدروکربن ها برای واکنش با ساختار هیدروفوبیک نظیر غشاء های باکتری است.

مکانیسم مطرح دیگر، ماهیت لیپوفیل روغن ها است که سبب تسهیل نفوذ غشاء سلولی و تجمع پلی ساکارید در موقعیت های استرس است، که سبب از هم گسیختگی پلاسمای سلول می گردد. چنین اثرات جانبی سینام آلدئید برای میزان تولید زیست توده و کاهش مورفوزن تصور شده است. مطالعات دقیق تری برای یافتن مکانیسم های سینام (Ye et al, 2013) آلدئید ضروری است.

مکانیسم می تواند یک آسیب فیزیکی یا واکنش شیمیایی باشد که سبب تخریب دیواره یا لیز غشاء سلولی گردد

(۱) به روش ویژه ای که سینام آلدئید به درون باکتری نفوذ کند که نامعلوم است

(۲) سینام آلدئید ممکن است که بر روی مواد ژنتیکی دارای یک اثر است

(۳) سینام آلدئید ممکن است که در زمانی که بر روی سایر میکروارگانیسم ها اثر می کند مکانیسم یکسانی داشته

باشد (Ye et al, 2013).

۵-۲- نتیجه گیری

نتیجه نهایی این مطالعه آن است که سینام آلدئید در غلظت ۰/۱ درصد توانسته است اثرات ضد باکتری مناسب در سس مایونز ایجاد نماید. از نظر آزمون های شیمیایی این ماده می تواند اسیدینه سس را افزایش دهد و از نظر تغییر رنگ هیچ گونه تغییر رنگ نامطلوب و معنی داری مشاهده نگردید.

۵-۳- محدودیت ها

برای انجام این کار ابتدا قرار بود مخمر زیگوساکارومایسس بایلی که شاخص فساد سس مایونز می باشد به عنوان یکی از میکروارگانیسمها مورد مطالعه قرار گیرد ولی متأسفانه علیرغم تلاش فراوان اساتید محترم راهنما و مشاور و دیگر دوستان عزیز موفق به تهیه این مخمر نشدیم.

در کارخانه مواد غذایی بیدستان دستگاه آنالیز رنگ وجود نداشت که انجام این آزمایش در آزمایشگاه همکار صورت گرفت.

دستگاه آنالیز بافتی در خصوص سس در هیچیک از آزمایشگاههای همکار قزوین موجود نبود و هزینه انجام این آزمایش در آزمایشگاههای استان تهران نیز بسیار بالا بود.

۵-۴- پیشنهادات

- ۱ - مطالعات بر روی اثرات سینام آلدئید بر رشد مخمرها
- ۲ - مطالعه بر روی قوام سس پس از افزودن سینام آلدئید
- ۳ - مطالعه بر روی خواص فیزیکوشیمیایی سینام آلدئید در غلظت های متفاوت
- ۴ - مطالعات بر روی خواص ارگانولپتیک سس در غلظت های متفاوت.

Adeli milani M. Mizani M. Gavami M. Effects of yellow mustard powder on microbial population, pH and organoleptic properties of mayonnaise. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 2010; 5 (2) :35-44.(In Persian)

Afshar M. Moallem SA. Hasanzadeh Taheri M. Shahsavan M. Sukhtanloo F. Salehi.F Effect of long term consumption of Sodium Benzoat before and during pregnancy on growth indexes of Fetal Balb/c mice. Modern Care J.(2013);9(3):173-180.

Amalaradjou MA, Hoagland TA, Venkitanarayanan K. Inactivation of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted infant formula by trans-cinnamaldehyde. International journal of food microbiology.(2009 Feb 15);129(2):146-9.

Amalaradjou MA. Baskaran SA. Ramanathan R. Johny AK. Charles AS. Valipe SRet al. Enhancing the thermal destruction of *Escherichia coli* O157: H7 in ground beef patties by trans-cinnamaldehyde. Food microbiology.(2010 Sep 30);27(6):841-4.

Baker E, Aktac T. Effects of Sodium Benzoate and Citric Acid on Serum, Liver and Kidney Tissue Total Sialic Acid Levels: An Ultrastructural Study. Journal of Applied Biological Sciences.(2014);8(2):09-15.

Barzegar H. Karbassi A. Jamalian J. Aminlari M. Investigation of the Possible Use of Chitosan as a Natural Preservative in Mayonnaise Sauce. JWSS - Isfahan University of Technology.(2008); 12 (43):361-370.(In persian)

Bevilacqua A. Corbo MR. Sinigaglia M. Combined effects of low pH and cinnamaldehyde on the inhibition of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in a laboratory medium. Journal of food processing and preservation.(2008 Oct 1);32(5):839-52.

- Beyoğlu, D. and Idle, J.R., 2012. The glycine deportation system and its pharmacological consequences. *Pharmacology & therapeutics*, 135(2), pp.151-167.
- Callaway TR. Carroll JA. Arthington JD. Edrington TS. Anderson RC. Riche SC. et al. Citrus products and their use against bacteria: Potential health and cost benefits. In *Nutrients, Dietary Supplements, and Nutraceuticals* .(2011); 277-286.
- Chalova VI. Crandall PG. Riche SC. Microbial inhibitory and radical scavenging activities of cold-pressed terpeneless Valencia orange (*Citrus sinensis*) oil in different dispersing agents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.(2010 Apr 15);90(5):870-6.
- Clauditz A. Resch A. Wieland KP. Peschel A. Götz F. "StaPH yloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress". *Infection and immunity*.(2006);74 (8): 4950-3.
- Darnton NC. Turner L. Rojevsky S. Berg HC. On torque and tumbling in swimming *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*.(2007 Mar 1);189(5):1756-64.
- Dashti-Rahmatabadi M. Vahidi Merjardi A. Pilavaran A. Farzan F. Antinociceptive Effect of Cinnamon Extract on Formalin Induced Pain in Rat. *JSSU*.(2009); 17(2):190-199.(In persian)
- Eberechukwu S. Amadi kwa A. Okechukwu M. Effect of oral intake of sodium benzoate on some haematological parameters of wistar albino rats. *Scientific Research and Essays*. (2007 Jan 31);2(1):006-9.
- El Asbahani A. Miladi K. Badri W. Sala M. Addi EA Casabianca H. El Mousadik A. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International journal of Pharmaceutics*. (2015 Apr 15);483(1):220-43.
- El-Ziney MG. GC-MS analysis of benzoate and sorbate in Saudi dairy and food products with estimation of daily exposure. *J Food Technol*.(2009);7(4):127-34.

European Commission, Health & Consumer Protection Directorate-General, Scientific Committee on Food. Public Health and Risk Assessment. C7 - Risk assessment. Scientific Committee on consumer products. Opinion on Benzoic Acid and Sodium Benzoate Adopted by the SCCP during the 4th plenary of 21 June 2005.

Feizabadi AM. Karazhyan H. Mahdian E. Rheological and textural attributes of mayonnaise including Cress seed gum. Journal of Innovation in Food Science and Technology.(2013);5(3):Pe55-64.(In persian)

Ferdous TA. Mahmud Hossain KM. Lutful Kabir SM. Mansurul Amin M. Characterization of Escherichia coli isolates obtained from washing and rinsed water of broilers in pluck shops at Sreepur of Gazipur district in Bangladesh. Scientific Journal of Microbiology. (2012 Oct 29);1(5):126-32.

Fujitani T. Short-term effect of sodium benzoate in F344 rats and B6C3F1 mice. Toxicology letters.(1993 Aug 31);69(2):171-9.

Ganjali A. Pourramzan Harati M."Study effects of anti-bacterial and anti-fungal essential oils of Artemisia Kermani." Journal of Plant Science research.(2013);(7): 32-39.(In Persian)

Gardner LK. Lawrence GD. Benzene production from decarboxylation of benzoic acid in the presence of ascorbic acid and a transition-metal catalyst. Journal of Agricultural and Food Chemistry.(1993 May);41(5):693-5.

Goni P. López P. Sánchez C. Gómez-Lus R. Becerril R. Nerín C. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. Food Chemistry.(2009 Oct 15);116(4):982-9.

Gorham JR, Hui YH, Pierson MD, editors. Foodborne Disease Handbook: Bacterial pathogens. Marcel Dekker; 2001.

Hashemi-Moghaddam H. Faizi P. Kamali H. & Nematolahei A.R."The Comparison Clevenger and microwave extraction method for extracting

essential oil from *Biebersteinia multifida* DC and analysis combined with gas chromatography mass spectroscopy and optimized by Box-Behnken design of experiments method." *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences*.(2012); 4:13-21.(In persian)

Heo SK. Lee JY. Jo SH. Bae DH. Kim YS. Chung MS. Ha SD. Inactivation of *Salmonella enterica* serovar typhimurium in commercial mayonnaise at different temperatures and pH . *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*.(2010 Jun 1);53(3):351-5.

Hosseini N. Malekiran A. Changizi Ashtiani S. Nazemi M. Free Radicals Scavenging Activity of Essential Oils and Different Fractions of Methanol Extract of *Zataria Multiflora*, *Salvia Officinalis*, *Rosmarinus Officinalis*, *Mentha Pulegium* and *Cinnamomum Zeylanicum*. *SSU_Journals*. (2012 May 15);20(1):28-38.(In persian)

Huang X. Wang Y. Hou H. Zhang Z. Liu W. [Determination of caffeine and sodium benzoate contents in caffeine and sodium benzoate injection by P-matrix method]. *Guang pu xue yu guang pu fen xi= Guang pu*.(1997 Apr);17(2):119-22.

Hwang CA. Marmer BS. Growth of *Listeria monocytogenes* in egg salad and pasta salad formulated with mayonnaise of various pH and stored at refrigerated and abuse temperatures. *Food microbiology*.(2007 May 31);24(3):211-8.

Hyldgaard M. Mygind T. & Meyer RL."Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components." *Frontiers in Microbiology*.(2012); 3(12): 1-24.

James M. Jay Martin J. Loessner and David A. Golden. *Modern Food Microbiology* *Modern Food Microbiology* (7th ed).New York, NY: SpringerScience,2005.

Jamshidi M. Barzegar M. Sahari MA. Effect of gamma irradiation on the antioxidant and antimicrobial activities of cinnamon powder. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology.(2013);7(4):73-82.(In persian)

Jayaprakasha GK, Rao LJ. Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. Critical reviews in food science and nutrition.(2011 Jul 1);51(6):547-62.

Jo YJ. Chun JY. Kwon YJ. Min SG. Hong GP. Choi MJ. Physical and antimicrobial properties of trans-cinnamaldehyde nanoemulsions in watermelon juice. LWT-Food Science and Technology.(2015 Jan 31);60(1):444-51.

Khayatzaheh J. Afshar M. Moallem SA. Shahsavan M. Naseh GH. Effect of potassium benzoate on BALB/c mice placenta: a histopathological study.J Gorgan Uni Med Sci.(2011); 13(1):8-15.

Kluytmans J. Van Belkum A. Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical microbiology reviews.(1997 Jul 1);10(3):505-20.

Kreindler JJ. Slutsky J. Haddad ZH. The effect of food colors and sodium benzoate on rat peritoneal mast cells. Annals of allergy.(1980 Feb);44(2):76.

Lennerz BS. Vafai SB. Delaney NF. Clish CB. Deik A. Pierce KA. Ludwig DS. Mootha VK. Effects of sodium benzoate a widely used food preservative, on glucose homeostasis and metabolic profiles in humans. Mol Genet Metab. (2015);114(1):73-9.

Liu H. Xu XM. Guo SD. Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. LWT-Food Science and Technology.(2007 Aug 31);40(6):946-54.

Makwana S. Choudhary R. Dogra N Kohli P Haddock J. Nanoencapsulation and immobilization of cinnamaldehyde for developing antimicrobial food packaging material. LWT-Food Science and Technology.(2014);57(2):470-6.

- Manso S. Cacho-Nerin F. Becerril R. Nerín C. Combined analytical and microbiological tools to study the effect on *Aspergillus flavus* of cinnamon essential oil contained in food packaging. *Food Control*.(2013 Apr 30);30(2):370-8.
- Mirshekari S. Moeini S. Bahri AH. Safari R. Saeidi Asl MR. Effect of Bacteriocine Z and Sodium Benzoate on Shelf-life of Caspian Roach (*Rutilus frisii kutum*) Fillet. *J Innovation Food Sci Technol*(2010); 2(1):19-27.
- Mohammad pur Q. Majad A. Tahernezhad S. Mehrabian S. Hoseinzadeh colagar A. study anti-fungal properties of essential oil of species from three genera thyme and two ecotypes kakooti and specie satureja bachtiarica. *journal(JSIAU)*.(2010);20(78.1):111-120.(In persian)
- Mohammadbeigi N. The Effect of Different Factors in Extraction Essential Oil from Cinnamomi. Basil & Peppermint, M.Sc. Thesis in Semnan University. 2008;42(2):153-199.(In persian)
- Momeni, T. & Shahrokhi, N. "Essential oil and their therapeutic action." 3rd ed. Tehran: University of Tehran press(2011); p. 1-8.(In persian)
- Montes-Belmont R, Carvajal M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *Journal of Food Protection*.(1998 May 1);61(5):616-9.
- Mpountoukas P, Vantarakis A, Sivridis E, Lialiaris T. Cytogenetic study in cultured human lymphocytes treated with three commonly used preservatives. *Food and Chemical Toxicology*.(2008 Jul 31);46(7):2390-3.
- Naghsh A. Amjad L. Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Artemisia deserti* Flowers Against Some Pathogenic Bacteria. *Qom University of Medical Sciences Journal*. (2015 Jan 24);8(5):57-64.(In persian)
- Nascimento Filho I. Schossler P. Freitas LS. Melecchi MI. Vale MG. Caramão EB. Selective extraction of benzoic acid from landfill leachate by solid-phase

extraction and ion-exchange chromatography. *Journal of Chromatography A*.(2004 Feb 20);1027(1):167-70.

Negi PS. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*.(2012 May 1);156(1):7-17.

Oyanagi K. Kuniya Y. Nagao M. Tsuchiyama A. Nakao T. Cytotoxicities of sodium benzoate in primary culture of hepatocytes from adult rat liver. *The Tohoku journal of experimental medicine*.(1987);152(1):47-51.

Rao PV. Gan SH. Cinnamon: A multifaceted medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.(2014 Apr 10);2014:10-24.

Raut JS. Karuppayil SM. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*.(2014 Dec 31);62:250-64.

S Mohammadifar. The Origin, History and Trade Route of Cinnamon. *Tarikh-Elm*.(2011);9:37-51.(In persian)

Safari A. Saeidi AM. The effect of nisin A and sodium benzoate on behavior of *Listeria monocytogenes* and some microbial and chemical parameters in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillet stored at 4°C. *J Food Hygiene*.(2011);1(3) :1-13.

Schaubschläger WW. Becker WM. Schade U. Zabel P. Schlaak M. Release of mediators from human gastric mucosa and blood in adverse reactions to benzoate. *International Archives of Allergy and Immunology*.(1991);96(2):97-101.

Shahnian M. Khaksar R. "Study Antimicrobial effects and methods for determining the minimum inhibitory concentration of herbal extracts on pathogenic bacteria: Review." *Iranian Journal of Nutrition and Food Technology*.(2013);7(5): 949-955.(In persian)

Shan B. Cai YZ. Brooks JD. Corke H. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.(2007 Jul 11);55(14):5484-90.

Shen S. Zhang T. Yuan Y. Lin S. Xu J. Ye H. Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane. *Food Control*.(2015 Jan 31);47:196-202.

Somya KV. Ravishankar K. Basha DP. Kiranmayi GV. Estimation of caffeine and sodium benzoate in caffeine and sodium benzoate injection by isoabsorption method (isobestic method). *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*. (2011);1(1):26-31.

Soon JM. Singh H. Baines R. Foodborne diseases in Malaysia: A review. *Food Control*. (2011 Jun 30);22(6):823-30.

Stanojevic D. Comic L. Stefanovic O. Solujic-Sukdolac S. Antimicrobial effects of sodium benzoate, sodium nitrite and potassium sorbate and their synergistic action in vitro. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*.(2009 Aug 1);15(4):307-11.

Tajkarimi M.M. Ibrahim S.A & Cliver D.O."Antimicrobial herb and spice compounds in food: A Review." *Food Control*.(2011); 21: 1199–1218.(In Persian)

Toth B. Lack of tumorigenicity of sodium benzoate in mice. *Fundamental and Applied Toxicology*.(1984 Jun 1);4(3):494-6.

Tsay HJ, Wang YH, Chen WL, Huang MY, Chen YH. Treatment with sodium benzoate leads to malformation of zebrafish larvae. *Neurotoxicology and teratology*.(2007 Oct 31);29(5):562-9.

Türkoğlu Ş. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. (2007)10;626(1):4-14.

Tzortzakis NG. Impact of cinnamon oil-enrichment on microbial spoilage of fresh produce. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*.(2009 Jan 31);10(1):97-102.

van der Kooy F. Sullivan SE. The complexity of medicinal plants: The traditional *Artemisia annua* formulation, current status and future perspectives. *Journal of ethnoPH armacology*.(2013 Oct 28);150(1):1-3.

Vernole, P., Caporossi, D., Tedeschi, B., Porfirio, B., Melino, G., Bonmassar, E. and Nicoletti, B., 1987. Cytogenetic effects of 1-p-(3-methyltriazeno) benzoic acid potassium salt on human lymphocytes in vitro. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 189(3), pp.349-356.

Wang GS. Deng JH. Min SH. Bo LI. Mechanisms, clinically curative effects, and antifungal activities of cinnamon oil and pogostemon oil complex against three species of *Candida*. *Journal of Traditional Chinese Medicine*.(2012 Mar 31);32(1):19-24.

Wei QY. Xiong JJ. Jiang H. Zhang C. Ye W. The antimicrobial activities of the cinnamaldehyde adducts with amino acids. *International journal of food microbiology*. (2011 Nov 1);150(2):164-70.

Whish JP. A flexible distillation system for the isolation of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*.(1996 Jul 1);8(4):405-10.

Xing F, Hua H. Selvaraj JN. Zhao Y. Zhou L. Liu X. Liu Y. Growth inhibition and morPH ological alterations of *Fusarium verticillioides* by cinnamon oil and cinnamaldehyde. *Food Control*.(2014 Dec 31);46:343-50.

Xing F. Hua H. Selvaraj JN. Zhao Y. Zhou L. Liu X. Liu Y. Growth inhibition and morPH ological alterations of *Fusarium verticillioides* by cinnamon oil and cinnamaldehyde. *Food Control*.(2014 Dec 31);46:343-50.

Xing Y. Li X. Xu Q. Yun J. Lu Y. Antifungal activities of cinnamon oil against *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium expansum* in vitro and

in vivo fruit test. International journal of food science & technology.(2010 Sep 1);45(9):1837-42.

Xiong R. Xie G. Edmondson AS. Meullenet JF. Neural network modelling of the fate of Salmonella enterica serovar Enteritidis PT4 in home-made mayonnaise prepared with citric acid. Food control.(2002 Dec 31);13(8):525-33.

Ye H. Shen S. Xu J. Lin S. Yuan Y. Jones GS. Synergistic interactions of cinnamaldehyde in combination with carvacrol against food-borne bacteria. Food control.(2013 Dec 31);34(2):619-23.

Yolmeh M, Najafi MB, Farhoosh R, Salehi F. Modeling of antibacterial activity of annatto dye on Escherichia coli in mayonnaise. Food Bioscience. (2014 Dec 31);8:8-13.

Zamani-Zadeh M, Soleimani-Zad S, Sheikh-Zeinoddin M. Biocontrol of gray mold disease on strawberry fruit by integration of Lactobacillus plantarum A7 with ajwain and cinnamon essential oils. Journal of food science.(2013 Oct 1);78(10):M1582-8.

Zengin N. Yüzbaşıoğlu D. Unal F Yılmaz S. Aksoy H. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. Food Chem Toxicol.(2011);49(4):763-9.

Zhang G. Ma Y. Spectroscopic studies on the interaction of sodium benzoate, a food preservative, with calf thymus DNA. Food Chem.(2013);141(1):41-7.